

Univerzita Karlova v Praze
Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Biologie
Studijní obor: Zoologie



Bc. Jana Habermannová

Evoluce hostitelské specializace u kukaččích včel rodu *Sphecodes*
(Halictidae)

Evolution of host specificity in cuckoo bees of the genus *Sphecodes*
(Hymenoptera)

Diplomová práce

Školitel: Mgr. Jakub Straka, Ph.D.

Praha, 2011

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, 12.8.2011

Podpis

Poděkování:

Chtěla bych poděkovat především svému školiteli Jakubovi Strakovi a to nejen za veškerou pomoc při realizaci a sepisování této práce, ale hlavně za to, že mě svým přístupem dokázal nadchnout k vědecké práci. Také bych ráda poděkovala Honzovi za pomoc s jazykovou úpravou textu, Vaškovi za jeho optimismus a rodičům, kteří mě po celou dobu studia podporovali.

Obsah

Abstrakt	7
Abstract.....	8
1. Úvod a cíle diplomové práce	9
2. Literární přehled.....	10
2.1 Využívání zdrojů a specializace	10
2.1.1 Červená královna a „závody ve zbrojení“	10
2.1.1.1 Kdo má v závodě výhodu?	10
2.1.1.2 Jak závod dopadne?	11
2.1.2 Je výhodnější být specialistou nebo generalistou?	12
2.1.3 Specializace na individuální úrovni.....	13
2.1.4 Specializace na zdroje v průběhu evoluce	14
2.1.4.1 Teoretické modely	16
2.1.4.1.1 Co říká Červená královna a „závody ve zbrojení“	16
2.1.4.1.2 Specializace jako slepá ulička	16
2.1.4.1.3 Koextinkce.....	17
2.1.4.1.4 Ecological fitting	17
2.1.4.2 Studie u konkrétních druhů	18
2.1.5 Specializace u včel.....	20
2.1.5.1 Pylová specializace	20
2.1.5.2 Hostitelská specializace u kukaččích včel	21
2.2 Kukaččí chování	22
2.2.1 Definice pojmů.....	22
2.2.1.1 Parazitismus	22
2.2.1.2 Kleptoparazitismus.....	22
2.2.2 Kukaččí chování u včel	23
2.2.2.1 Kukaččí včely kladoucí do uzavřených buněk („openers“)	24
2.2.2.2 Kukaččí včely kladoucí do otevřených buněk („embedders“).	24
2.2.2.3 Kukaččí včely kladoucí do otevřených, ale již plně zásobených buněk („enclosers“).....	25
2.2.2.4 Kukaččí včely používající agresivní parazitickou strategii („exterminators“).....	25
2.2.3 Kukaččí chování u jiných skupin živočichů	25
2.2.3.1 Ptáci	25
2.2.3.2 Ryby.....	26
2.2.3.3 Členovci.....	26
2.3 Tribus Sphecodini.....	26
2.3.1 Fylogeneze a systém	26

2.3.2 Parazitické strategie.....	27
2.3.3 Hostitelská specializace.....	27
3. Materiál a metodika	28
3.1 Data a materiál	28
3.2 Určování hostitelské specializace	28
3.2.1 Analýza ancestrálních hostitelů	29
3.2.2 Analýza vývoje hostitelské specializace	29
3.2.2.1 Definice specialisty a generalisty	29
3.3 Získávání molekulárních dat	30
3.3.1 Izolace DNA.....	30
3.3.2 Amplifikace DNA.....	31
3.3.3 Elektroforéza.....	33
3.3.4 Purifikace PCR produktů.....	33
3.3.5 Sekvenace	33
3.4 Analýzy získaných dat.....	34
3.4.1 Vyhodnocování sekvencí a tvorba alignmentu.....	34
3.4.2 Fylogenetické analýzy	35
3.4.2.1 Bayesovská analýza	35
3.4.2.2 Maximální věrohodnost (Maximal Likelihood)	35
3.5 Mapování ancestrálních stavů.....	35
3.5.1 Bayesovská metoda.....	35
3.5.2 Maximální parsimonie	37
3.5.3 Testování ireverzibilního vývoje hostitelské specializace	37
3.6 Molekulární datování.....	38
4. Výsledky	39
4.1 Fylogeneze a systematika tribu Sphecodini	39
4.1.1 Mezidruhová úroveň.....	39
4.1.2 Vnitrodruhová úroveň	40
4.2 Mapování ancestrálních stavů.....	44
4.2.1 Mapování vývoje hostitelské specializace	44
4.2.2 Mapování ancestrálních hostitelů	53
4.3 Testování ireverzibilního vývoje hostitelské specializace.....	57
4.4 Molekulární datování.....	57
5. Diskuse	59
5.1 Fylogeneze a systém tribu Sphecodini	59

5.2 Specializace na zdroje	61
5.2.1 Definice specialisty a generalisty	61
5.2.1.1 Určování hostitelské specializace u kukaččích včel.....	62
5.2.1.2 Určování hostitelské specializace u kukaččích včel rodu <i>Sphecodes</i>	64
5.2.2 Hostitelská specializace rodu <i>Sphecodes</i> v průběhu evoluce	65
5.2.2.1 Specializace jako původní strategie rodu <i>Sphecodes</i>	65
5.2.2.2 Je specializace slepou uličkou?	66
5.2.2.3 Kospeciace nebo přeskoky na nové hostitele?.....	66
5.2.2.4 Přeskoky mezi hostiteli jako běžná evoluční událost	67
7. Shrnutí	69
8. Použitá literatura	70
9. Přílohy	79
Příloha 1	79
Příloha 2	85
Příloha 3	89
Příloha 4	91
Příloha 5	92
Příloha 6	93

Abstrakt

Kukaččí včely se chovají podobně jako dobře známé kukačky – kladou vajíčka do hnízd jiným včelám. Předložená diplomová práce mapuje vývoj hostitelské specializace v rámci výhradně kukaččího rodu *Sphecodes*. Podle klasického pohledu vycházejícího z hypotézy Červené královny, by se měli parazité v průběhu evoluce postupně specializovat, aby udrželi tempo v „závodech ve zbrojení“ se svými hostiteli. Zároveň je specializace vnímaná jako evoluční slepá ulička – úzké přizpůsobení znemožňuje změnu hostitele. Za účelem otestování těchto hypotéz byla na základě částečných sekvencí pěti genů sestavena fylogeneze tribu Sphecodini. Pro každého předka pak bylo pomocí dvou metod mapování ancestrálních znaků (Bayesovská metoda, maximální parsimonie) stanoveno, zda byl generalista nebo specialista a u jakých hostitelů parazitoval. Výsledky ukazují, že původní strategií byla specializace a generalisté vznikli ze specializovaných předků teprve v nedávné době. Také je z výsledků patrné, že běžně dochází k přeskokům mezi hostitelskými druhy. Tyto závěry jsou v rozporu s hypotézou Červené královny i s tvrzením, že je specializace evoluční slepou uličkou. Že tyto hypotézy v rámci rodu *Sphecodes* neplatí, ukazuje i likelihood ratio test, ve kterém vyšel likelihood modelu umožňujícího obousměrný přechod mezi specialisty a generalisty signifikantně vyšší než likelihood modelu umožňujícího jen jednosměrný přechod z generalisty na specialistu.

Klíčová slova: hostitelská specializace, kukaččí včela, *Sphecodes*, hypotéza Červené královny.

Abstract

Cuckoo bees behave similarly to the well-known birds, cuckoos - they lay eggs in the nests of other bees. Proposed thesis charts the evolution of host specialization within the strictly cuckoo genus *Sphecodes*. According to the classical view based on the Red Queen hypothesis, parasites should gradually specialize during evolution to keep pace in the “arms race” with their hosts. Specialization is also perceived as an evolutionary dead end - narrow adaptation prevents change of host. To test these hypotheses phylogeny of tribus Sphecodini based on the partial sequences of five genes was constructed. For each ancestor has been by two methods of mapping ancestral characters (Bayesian method, Maximum Parsimony) specified, whether it was specialist or generalist and which kind of host or hosts it had. The results show that the original strategy of genus *Sphecodes* is specialization and generalists originated from specialized ancestors only recently. The results also show that the jumps between the hosts are common. These findings are inconsistent with the Red Queen hypothesis as well as with the view that specialization is an evolutionary dead end. Falsity of these hypotheses within the genus *Sphecodes* established also likelihood ratio test, in which the likelihood of model allowing two-way transition between specialists and generalists have significantly higher value, than likelihood of the model allowing only a one-way transition from generalists to specialists.

Key words: host specialization, cuckoo bee, *Sphecodes*, Red Queen hypothesis

1. Úvod a cíle diplomové práce

Žádný živý organismus si nevystačí sám o sobě, ke svému životu vždy potřebuje i jiné organismy nebo neživé struktury. Všechny takové skutečnosti, které organismus potřebuje k životu a kterých není neomezená zásoba (mohou být spotřebovány), nazýváme zdroji (Begon et al., 2006). Zdrojem tedy může být například potrava, místo pro hnízdění nebo hostitel.

Neexistuje žádný organismus, který by dovedl využívat všechny zdroje. Spektrum zdrojů, které umí určitý organismus využívat, je vždy omezené. Nicméně v některých případech může být hodně široké jindy může být naopak velice úzké. Organismy, které jsou schopné využívat široké spektrum zdrojů, označujeme jako generalisty a organismy, jejichž škála využívaných zdrojů je značně omezená, nazýváme specialisty.

Často řešenou otázkou je, zda je jedna z těchto strategií výhodnější a zda tím pádem existuje nějaký trend, kterým se specializace na zdroje v průběhu evoluce ubírá. I přes poměrně velký počet studií, které se tímto tématem zabývají, neexistuje na tuto otázku jednoznačná odpověď. Důvody jsou zřejmě dva. První příčinou může být rozdílnost mezi systémy, ve kterých je tato otázka zkoumána – například potravní specializace může být ovlivněna jinými faktory než specializace parazita na hostitele. Druhou příčinou může být samotná velká rozmanitost mezi organismy – každý druh je specifický a okolnosti důležité pro vývoj specializace u jednoho druhu se u jiného druhu nemusí vůbec vyskytovat.

Ve většině studií zabývajících se specializací na zdroje je řešen model herbivorní hmyz – živná rostlina, případně parazit – hostitel. Pokud ale chceme tomuto jevu co nejlépe porozumět, je potřeba zabývat se i jinými modely. A proto je v mé diplomové práci otázka specializace na zdroje řešena na modelu specializace kukaččích včel na jejich hostitele.

Cíle této diplomové práce jsou následující:

- (1) Zrekonstruovat evoluci hostitelské specializace u kukaččích včel na příkladu rodu *Sphecodes*.
- (2) Otestovat hypotézu postupné specializace kukaččích včel v průběhu evoluce.
- (3) Zrekonstruovat přechody mezi hostitelskými druhy v průběhu evoluce rodu *Sphecodes*.
- (4) Pomocí molekulárního datování upřesnit počet přeskoků mezi hostiteli (srovnáním doby vzniku hostitelských druhů s dobami divergence uvnitř rodu *Sphecodes*).
- (5) Zrekonstruovat fylogenezi tribu Sphecodini.

2. Literární přehled

2.1 Využívání zdrojů a specializace

2.1.1 Červená královna a „závody ve zbrojení“

Princip Červené královny říká, že pokud nechce určitá evoluční linie (například druh) vymřít, musí držet krok s tempem evoluce ostatních evolučních linií, se kterými nějakým způsobem interaguje (Van Valen, 1973). Neboli, jak říká ve známé Carrollově knize (Carroll, 1988) Červená královna Alence: „Jak vidíš, tady musíš běžet ze všech sil, abys setrvala na jednom místě. Chceš-li se dostat jinam, musíš běžet aspoň dvakrát tak rychle!“

Pokud si tedy jeden druh vyvine novou výhodnou adaptaci, může se změnit selekční tlak na druhy, které s tímto druhem nějakým způsobem interagují (jako kořist, predátor, parazit, hostitel, konkurent atd.). A pokud tyto druhy na nový selekční tlak vhodně a včas nezareagují, může se jim stát, že „v evolučním závodě poběží příliš pomalu“ a vymřou. Z tohoto pohledu má evoluce charakter jakýchsi „závodů ve zbrojení“, kdy je každá výhodná adaptace jedné strany (kořisti, hostitele), následována adaptací druhé strany (predátora, parazita, atd.) snižující tuto výhodu (Dawkins & Krebs, 1979).

„Závody ve zbrojení“ se mohou odehrávat jak na interspecifické, tak a na intraspecifické úrovni. A mohou být symetrické nebo asymetrické (Dawkins & Krebs, 1979).

O symetrických „závodech ve zbrojení“ mluvíme tehdy, pokud se obě strany snaží být lepší ve stejné věci. Na mezidruhovém úrovni se může jednat například o kompetici o omezené potravní zdroje. Na vnitrodruhovém úrovni se může jednat například o závody samců o samice.

Asymetrické „závody ve zbrojení“ jsou založené na principu útok – obrana. Na mezidruhovém úrovni se jedná například o vztahy predátor – kořist nebo parazit – hostitel. Na vnitrodruhovém úrovni to pak může být evoluční souboj mezi samci a samicemi nebo mezi královnou a dělnicemi sociálního hmyzu.

2.1.1.1 Kdo má v závodě výhodu?

V okamžiku, kdy si jedna strana vyvine novou výhodnou adaptaci, získá v evolučním závodě výhodu až do doby, než protivník vyvine „protiadaptaci“. Pokud má jedna strana pravidelně toto výhodné období delší než druhá, poběží v evolučním závodě napřed. Záleží tedy na rychlosti, jakou je druh schopný reagovat na měnící se podmínky prostředí (Dawkins & Krebs, 1979).

Specialista se bude pravděpodobně schopný na změněné podmínky adaptovat rychleji než generalista a to z těchto důvodů:

- (1) Adaptace na různé zdroje mohou být antagonistické (Futuyma & Moreno, 1988). Generalistovi tedy mohou v účinném přizpůsobení na jeden zdroj bránit přizpůsobení na jiné zdroje, které rovněž využívá.
- (2) Čím má druh širší niku, tím má pomalejší evoluční odpověď a tím pádem je u něj doba, než se zafixují výhodné alely, delší než u druhu s úzkou nikou. To znamená, že i když nejsou adaptace na různé zdroje antagonistické, generalistovi bude i přesto trvat déle, než se změně jednoho zdroje přizpůsobí. U specialistů se výhodná alela rozšíří rychleji, protože je selekčnímu tlaku nepřetržitě vystaven každý jedinec. Na rozdíl od generalistů, u kterých může selekční tlak působit jen na určité jedince nebo jen za určitých podmínek (Whitlock, 1996; Kawecki, 1998).

Princip „večeře nebo život“ říká, že v závodě mezi kořistí a predátorem vyhraje kořist, a to proto, že následky neúspěchu jsou pro kořist dalekosáhlejší (smrt) než pro predátora (ztráta večeře). Na kořist je tedy vyvíjen silnější selekční tlak. Jedinci, kteří predátorovi neutečou, zemřou, a tím pádem se ani nerozmnoží a nepředají své alely do dalších generací. Oproti tomu selekční tlak na predátora není zřejmě tak vysoký, protože rozmnožit se může i méně úspěšný predátor. Na druhou stranu má ale predátor výhodu v tom, že může investovat energii do adaptací, které mu například umožní úspěšnější rozmnožování, protože se nemusí neustále starat o to, aby vůbec přežil (Slobodkin, 1974).

Dalším aspektem, který může zvýhodnit jednu stranu v „závodech ve zbrojení“, je schopnost učení. Pokud nějaký druh tuto schopnost má, může zareagovat na protivníkovu adaptaci již v průběhu jedné generace. Nevýhodou ovšem je, že v další generaci druh tuto výhodu ztratí a závod začíná opět od začátku. Výjimkou mohou být populace, ve kterých existuje kulturní evoluce (Dawkins & Krebs, 1979).

Průběh závodů ve zbrojení může ovlivňovat ještě celá řada dalších faktorů, mezi něž patří například velikost populace, její genetická variabilita, generační doba, mutační rychlost, rekombinační rychlost, či prezence, nebo absence sexuálního rozmnožování (Dawkins & Krebs, 1979).

2.1.1.2 Jak závod dopadne?

Dawkins & Krebs (1979) popisují tři způsoby, kterými mohou „závody ve zbrojení“, skončit: (1) „vítězstvím“ jedné strany, (2) dosažením rovnovážného stavu nebo (3) zacyklením.

Vítězství jedné strany může nastat v případě, kdy jeden druh následkem „soupeření“ s druhým druhem vymře. Pokud ovšem predátor nebo parazit vyhladí svou kořist (hostitele), čeká ho pravděpodobně v krátké době stejný osud (Brooks & McLennan, 2002). Další variantou je, že „závody ve zbrojení“ vyústí až v mutualistický vztah, který je pro oba druhy výhodný. Třetí možnost – zacyklení, předpokládá, že za každou výhodnou adaptaci musí druh platit určitým znevýhodněním v jiných oblastech. V souladu s principem „večeře nebo život“, může být jedna strana (kořist) ochotná za své adaptace platit vyšší cenou. Ovšem v okamžiku, kdy bude tato cena příliš vysoká, selekce upřednostní druhou stranu (predátora), která místo toho investovala do jiných oblastí (například do rozmnožování). V tuto chvíli přestává být pro predátora výhodné platit tak vysokou cenu za adaptace umožňující efektivnější predaci a tak vznikne selekční tlak na návrat k „levnějším“ adaptacím. Závod tak může začít zase od začátku.

2.1.2 Je výhodnější být specialistou nebo generalistou?

V přírodě nacházíme jak generalisty, kteří využívají široké spektrum zdrojů, tak i specialisty, kteří jsou úzce přizpůsobení jen na určitý zdroj. Nelze obecně určit, která z těchto strategií je lepší. Obě mají své výhody i nevýhody a je na daném druhu, kterou cestu si vybere.

Možné výhody specializovaných druhů:

- Úzké přizpůsobení na daný zdroj umožňuje jeho efektivnější využití (Futuyma & Moreno, 1988; Begon et al., 2006).
- Výhodná alela umožňující efektivnější využívání zdroje se rozšíří rychleji než u generalistů (Whitlock, 1996; Kawecki, 1998).
- Specialisté jsou méně zatíženi škodlivými mutacemi. Mutace, která zapříčiní horší využívání zdroje, je škodlivá u všech jedinců a proto je rychle eliminována. Na rozdíl od generalistů, kde může mutace škodit, jen při využívání určitého zdroje (Kawecki, 1994; Whitlock, 1996).
- Specializace umožňuje jednodušší zpracovávání informací při vyhledávání vhodného zdroje. Specialista může většinu informací, které se k němu z prostředí dostávají, vyfiltrovat, protože mu stačí soustředit se na jeden typ informace charakteristický pro hledaný zdroj (Bernays, 2001).
- Specialisté jsou často přizpůsobení na zdroje, které je obecně těžké využívat (např. kvůli jejich toxicitě). Díky tomu mohou žít v prostředí s nižší kompeticí i s nižší predací (Jaenike, 1990).

Možné výhody generalistů:

- Protože generalisté mají k dispozici větší množství zdrojů, je pravděpodobné, že doba strávená hledáním vhodného zdroje bude kratší než u specialistů (Jaenike, 1990; Begon et al., 2006).
- Generalisté mohou být méně náchylní k extinkcím, protože na rozdíl od specialistů nejsou striktně závislí pouze na jednom zdroji (Poulin et al., 2006).
- Úzká specializace je často doprovázená ztrátou nebo redukcí řady znaků. Naproti tomu generalisté jsou nuceni uchovávat si větší repertoár znaků, ze kterých mohou v průběhu evoluce vznikat další varianty. Generalisté tak mohou mít vyšší evoluční potenciál (Futuyma & Moreno, 1988).

Z výše uvedeného vyplývá, že specializace může být výhodnější strategií ve stabilním prostředí, kde není problém najít daný zdroj (Futuyma & Moreno, 1988). Oproti tomu generalisté mohou být zvýhodněni v nestabilním prostředí, kde se často mění podmínky (Futuyma & Moreno, 1988; Kawecki, 1994). Pokud má druh nějakým způsobem omezený čas, který může strávit hledáním vhodného zdroje, bude pro něj výhodnější generalistická strategie. U druhů, kteří tímto limitováni nejsou, bude naopak pravděpodobně výhodnější specializace (Jaenike, 1990).

Zároveň může být specializace výhodnější pokud je vysoký trade-of mezi adaptacemi na jednotlivé zdroje (Futuyma & Moreno, 1988).

V málo početných populacích nebo u druhů s omezenou schopností pohybu může být důvodem vzniku úzké specializace i skutečnost, že se tím zvyšuje pravděpodobnost setkání dvou jedinců a vzrůstá tak i počet příležitostí k páření (Rohde, 1979).

2.1.3 Specializace na individuální úrovni

Ne všechny druhy lze zařadit buď mezi specialisty nebo mezi generalisty. U některých druhů se vyskytuje jakási kombinace obou těchto strategií, která se většinou označuje jako specializace na individuální úrovni nebo jako individuální specializace.

Bolnick et al. (2003) definuje specialistu na individuální úrovni jako jedince, jehož nika je značně zúžená ve srovnání s celkovou nikou dané populace. Přičemž toto zúžení není zapříčiněno věkem, pohlavím nebo příslušností (a priori) k určitému diskrétnímu morfotypu. Druh jako celek je v takovém případě generalistický a využívá širokou škálu zdrojů, ale každý jedinec je individuálně specializovaný pouze na určitý zdroj.

Individuální specializace byla v současné době popsána u více než sta taxonů, může nabývat mnoha různorodých podob a může být podmíněna buď environmentálně nebo geneticky (podrobný přehled viz Bolnick et al., 2003).

Vznik takovéto strategie je podporován vnitrodruhovou kompeticí a naopak potlačován mezidruhovou kompeticí. Vnitrodruhová kompetice vyvíjí na jedince tlak, aby buď začali využívat nějaký nový zdroj, nebo se lépe přizpůsobili na jeden ze stávajících zdrojů a získali tak výhodu nad ostatními příslušníky stejného druhu (Roughgarden, 1972). V případě vysoké vnitrodruhové kompetice je výhodná i specializace na suboptimální zdroj (Wilson & Turelli, 1986). Mezidruhová kompetice může naopak výhodnost specializace na určitý zdroj snižovat. Protože pokud je tento zdroj již využíván jiným druhem, který je na něj navíc dobře přizpůsobený, individuální specializace na takový zdroj jedinci očividně nepomůže k tomu, aby se vymanil z kompetičního tlaku. Z toho plyne, že individuální specializace vzniká především v prostředí s nízkou mezidruhovou a vysokou vnitrodruhovou kompeticí (Bolnick et al., 2003).

Dalším tlakem, který může vést ke vzniku individuální specializace je hromadění škodlivých mutací u generalistů (viz předchozí kapitola). V takovém případě je pro jedince výhodné specializovat se na takový zdroj, pro jehož využívání nese co nejméně škodlivých mutací, což bude ve většině případů stejný zdroj, který využívali i jeho rodiče. Protože každý jedinec (genetická linie) v populaci nese jiné škodlivé mutace, výsledkem bude individuální specializace jedinců na různé zdroje při zachování celkové šíře využívaných zdrojů pro daný druh (Kawecki, 1994).

2.1.4 Specializace na zdroje v průběhu evoluce

Evoluční vztah dvou druhů, ve kterém tyto druhy vzájemně ovlivňují selekční tlaky, které na ně působí, nazýváme koevolucí (Mode, 1958; Agosta, 2006).

Pokud budeme jako zdroj uvažovat nějaký jiný organismus, který námi zvolený druh potřebuje k životu (je jeho potravou, hostitelem...), lze na vývoj vztahu daného druhu s daným zdrojem pohlížet jako na koevoluci.

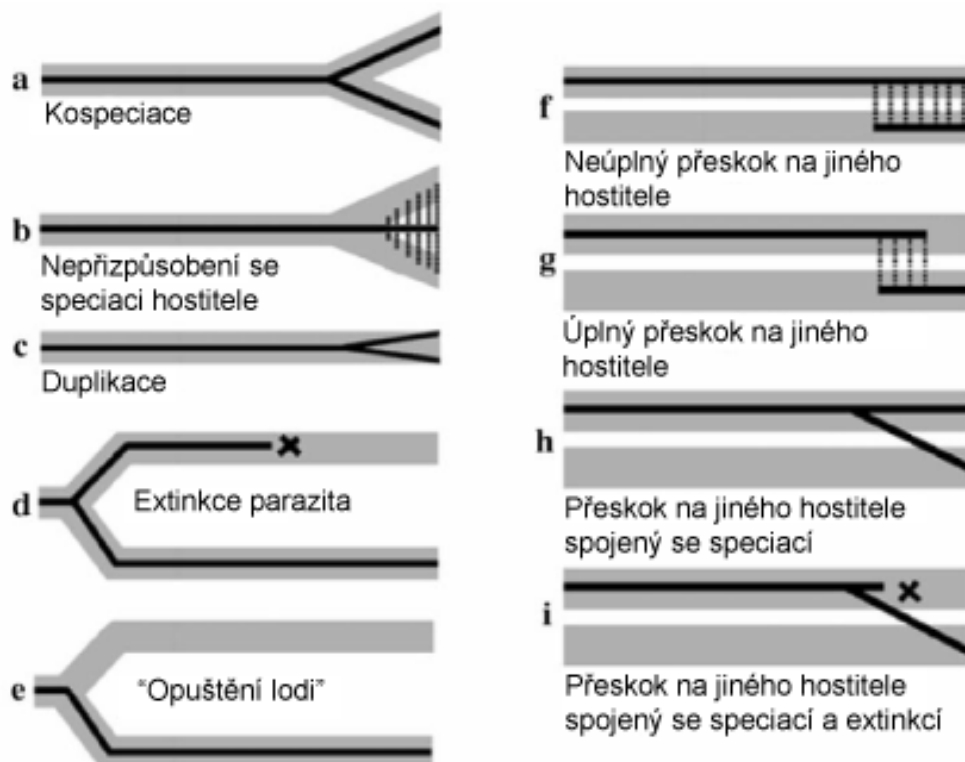
Koevoluce dvou druhů může vyústit v mnoho situací, které lze zobecnit do devíti možných scénářů (viz obrázek 1). Pro zjednodušení tyto scénáře popíši na vztahu parazit – hostitel, ale toto rozdělení lze použít i pro jiné ekologické vztahy.

- a) **Kospeciace** – se specií hostitele je spojena i speciace parazita.

- b) **Nepřizpůsobení se speciaci hostitele** („Failure to speciate“) – speciace hostitele není spojena se speciací parazita a parazit využívá oba nově vzniklé hostitelské druhy.
- c) **Duplikace** – speciace parazita, která není spojena se speciací hostitele.
- d) **Extinkce parazita**
- e) **„Opuštění lodi“** („Missing the boat“) – speciace hostitele bez speciace parazita, kdy parazit využívá jako hostitele jen jeden z nově vzniklých druhů.
- f) **Neúplný přeskok na jiného hostitele** – parazit si přibere nového hostitele, ale současně stále využívá stávajícího hostitele.
- g) **Úplný přeskok na jiného hostitele** – parazit si přibere nového hostitele a po určité době přestane využívat původního hostitele a specializuje se jen na nového.
- h) **Přeskok na jiného hostitele spojený se speciací** – speciace parazita, kdy jeden z nově vzniklých druhů zůstává na původním hostiteli a druhý začne využívat hostitele jiného.
- i) **Přeskok na jiného hostitele spojený se speciací a extinkcí** – stejná situace, jako ve scénáři h) s tím, že druh zůstávající na původním hostiteli záhy vymře.

Podle (Johnson et al., 2003).

V této kapitole se dále budu věnovat tomu, jak se v průběhu evoluce specializace na zdroje vyvíjí – zda se druhy postupně specializují, nebo naopak spíše rozšiřují spektrum využívaných zdrojů, a zda jsou možné přeskoky na nové hostitele, nebo musí být změna hostitele vždy spojena s kospeciací. Jinými slovy se tedy můžeme ptát na to, které z výše uvedených koevolučních procesů se vyskytují v průběhu evoluce specializace a jak jsou běžné.



Obrázek 1 : Koevoluční procesy na příkladu systému parazit – hostitel (upraveno podle Johnson et al., 2003)

Šedě je znázorněna fylogenetická linie hostitele, černě je znázorněna fylogenetická linie parazita. Přerušované čáry znázorňují tok genů mezi různými populacemi parazitického druhu

2.1.4.1 Teoretické modely

2.1.4.1.1 Co říká Červená královna a „závodů ve zbrojení“

Z teorií Červené královny a „závodů ve zbrojení“ popsaných výše vyplývá, že by se druhy měly v průběhu evoluce postupně specializovat, aby byly schopné udržet krok s jinými organismy, se kterými nějakým způsobem interagují (např. s konkurenty, hostiteli, parazity, predátory nebo kořistí) (Van Valen, 1973; Dawkins & Krebs, 1979).

2.1.4.1.2 Specializace jako slepá ulička

V tradičním pohledu je úzká specializace vnímána jako evoluční slepá ulička. Tuto hypotézu poprvé formuloval Cope (1904) jako „zákon nespecializovaných“, který říká, že vysoce specializované a vyvinuté linie organismů jednoho geologického období nedají vzniknout dominantním liniím období následujícího. Předky úspěšných linií následujícího období jsou naopak málo specializované organismy. Později byla tato zákonitost obecně vysvětlována tím, že úzké přizpůsobení na určitý zdroj je spojeno s redukcí řady znaků

umožňujících využívat i zdroje jiné, což vede ke ztrátě evolučního potenciálu a tím pádem k zablokování možnosti přizpůsobit se na nový zdroj. Specializovaný druh má tedy vyšší pravděpodobnost extinkce než druh generalistický, jelikož není schopen zareagovat na vymizení využívaného zdroje (Futuyma & Moreno, 1988).

2.1.4.1.3 Koextinkce

S hypotézou specializace jako slepé uličky úzce souvisí teorie koextinkce, která říká, že vymře-li nějaký druh, současně s ním mohou vymřít i další druhy, které jsou na něj úzce navázané (např. jsou jeho parazity nebo predátory) (Stork & Lyal, 1993; Koh et al., 2004a; Koh et al., 2004b). Jako příklad tohoto procesu Stork & Lyal (1993) uvádí vymření holuba stěhovavého (*Ectopistes migratoria* (Linnaeus, 1766)) a s tím spojené vymření parazitické péřovky (*Columbicola extinctus* Malcomson, 1937). Nicméně tato péřovka byla později nalezená na jiném druhu holuba (Price et al., 2000). Lepším příkladem by tedy mohl být úbytek motýlů spojený s mizením jejich živných rostlin (např. Koh et al., 2004b).

2.1.4.1.4 Ecological fitting

Pokud si představujeme evoluci jako neustálé „závody ve zbrojení“, v jejichž důsledku musí daný druh běžet, co nejrychleji dovede, aby neprohrál svůj evoluční zápas s ostatními druhy, jen těžko si lze představit možnost, že druh ze své běžecké dráhy najednou přeskočí do jiné a poběží závod s jinými soupeři. Jinými slovy: v souvislostech hypotézy Červené královny (Van Valen, 1973), „závodů ve zbrojení“ (Dawkins & Krebs, 1979) a specializace jako slepé uličky (Cope, 1904) si lze těžko představit, že daný druh najednou začne využívat nový zdroj (např. změnu svého hostitele nebo kořisti). Změna využívaného zdroje je v rovině tohoto pohledu možná jen prostřednictvím postupného procesu koevoluce daných druhů a následné kospeciace.

Odlišný pohled poskytuje koncept Ecological fitting, podle kterého nemusí být vzájemné přizpůsobení dvou druhů podmíněno sdílenou evoluční historií, ale pouze skutečností, „že do sebe vlastnosti daných druhů zapadají“. Neboli: druh je schopný osídlit nové prostředí a přetrvávat v něm jednoduše díky tomu, že mu to umožňují adaptace, které v minulosti získal – a nezáleží na tom, kde je získal (Janzen, 1985).

Agosta & Klemens (2008) stanovili tři základní faktory, které umožňují organismu úspěšně existovat (dosáhnout dostačující biologické zdatnosti - fitness) v nových podmínkách:

- (1) **Fenotypická plasticita**, která umožňuje rychlou a flexibilní reakci bez nutnosti změny genů.

(2) **Preadaptace** - selekční tlaky, které na organismus v minulosti působily, mohly vést ke vzniku vlastností, jež se organismu hodí i v novém prostředí. Díky prodělané evoluční minulosti může být tedy daný druh preadaptovaný i na nové podmínky.

(3) **Fylogenetický konzervatismus** způsobující, že vlastnosti, které již organismus nepotřebuje, ihned nezmizí a jsou tak uchovány pro případné použití v nových podmínkách.

Prostřednictvím těchto tří faktorů vzniká u každého organismu jakási potenciální biologická zdatnost (fitness), kterou by měl v odlišných podmínkách, než jsou ty, ve kterých se vyvinul. Tento ekologický prostor potenciální biologické zdatnosti, který Agosta & Klemens (2008) označují jako „**sloppy fitness space**“, hraje důležitou roli při procesu změny využívaného zdroje, protože vymezuje prostor potenciálních zdrojů, na které může organismus přeskóčit (Agosta, 2006; Agosta et al., 2010).

Každá výměna využívaného zdroje za zdroj jiný má 2 fáze: (1) rozšíření spektra využívaných zdrojů o zdroj nový a následně (2) ukončení využívání původního zdroje (specializace na nový zdroj). Pro úspěšnou výměnu využívaného zdroje musí být tedy přítomen jak mechanismus pro zvyšování specializace, tak mechanismus pro její snižování (Agosta et al., 2010).

2.1.4.2 Studie u konkrétních druhů

Ve většině prací zabývajících se specializací u konkrétních organismů je jako výchozí předpoklad používána hypotéza specializace jako slepé uličky. Nicméně jen v některých případech se tento předpoklad alespoň částečně potvrdil. Například u leguánů zaznamenal Losos et al. (1994) trend k přetrvávání specializace i přesto, že v současných podmínkách by byla pro dané druhy výhodnější generalistická strategie. Podporu pro hypotézu specializace jako slepé uličky našli také Kelley & Farrell (1998) u brouků rodu *Dendroctonus* Erichson, 1836 (Scolytidae), u nichž je patrný evoluční trend vzniku specializovaných forem z forem generalistických. Navíc je zde pravděpodobné, že specializované druhy mají jen poměrně krátké trvání a rychle vymírají. U některých parazitických organismů byla potvrzena kospeciace parazita s hostitelem (například: Paterson et al., 1993; Dabert & Mironov, 1999; Paterson & Poulin, 1999, Johnson et al., 2003), což může být následek úzkého přizpůsobení parazita na svého hostitele a v důsledku toho zablokování možnosti přechodu na hostitele jiného.

Na druhou stranu existují studie, které ukazují, že evoluce hostitelské specializace může běžet i směrem „od specialistů ke generalistům“ a specializace tedy nemusí být slepou

ulíčkou ani odvozeným stavem (Lanyon, 1992; Muller, 1996; Desdevises et al., 2002; Scheffer & Wiegmann, 2000; Janz et al., 2001; Poulin et al., 2006). Mnoho studií také ukazuje, že přeskoky mezi zdroji mohou být poměrně běžnou záležitostí a nemusí být spojené s kospeciací (Janz & Nylin, 1998; Brant & Gardner, 2000; Crespi & Sandoval, 2000; Scheffer & Wiegmann, 2000; Janz et al., 2001; Ronquist & Liljeblad, 2001; Lopez-Vaamonde et al., 2003; Favret & Voegtlin, 2004), což lze dobře dokázat zejména evidencí přeskoků herbivorního hmyzu na zavlečené rostliny (Tabashnik, 1983; Singer et al., 1993; Fox et al., 1997).

Z výše uvedeného vyplývá, že nelze použít nějaký univerzální model, který by vysvětloval, jak v průběhu evoluce specializace na zdroje vzniká a jak se následně vyvíjí. Tradiční hypotéza postupné specializace spojené s koevolucí a následně s koextinkcí nebo kospeciací jako nevyhnutelným koncem, nachází v současných studiích jen malou podporu. Je zřejmé, že k přeskokům mezi zdroji dochází a to jak ve smyslu rozšiřování spektra využívaných zdrojů, tak i ve smyslu výměny využívaného zdroje za zdroj jiný (Agosta, 2006; Hoberg & Brooks, 2008; Agosta et al., 2010). Vysvětlení této skutečnosti nabízí koncept Ecological fitting. Po přeskoku na nový zdroj může následovat fáze, kdy se druh prostřednictvím selekce morfologicky, fyziologicky nebo behaviorálně přizpůsobuje na jeho využívání. Nicméně délka trvání a míra tohoto procesu vždy závisí na konkrétní situaci (Agosta, 2006).

Změna využívaného zdroje může být radikální, ale může to být i změna pro daný organismus nerozlišitelná. Je potřeba si uvědomit, že specializace je pravděpodobně spíše ekologická než fylogenetická (Brooks & McLennan, 2002; Desdevises et al., 2002). Je proto potřeba rozlišovat mezi přeskokem na ekologicky podobný zdroj a přeskokem na ekologicky odlišný zdroj, jehož využívání vyžaduje vznik nových adaptací (Hoberg & Brooks, 2008). Také může být pro daný organismus snadnější přeskóčit na zdroj, který již někdy v evoluční minulosti využíval (Futuyma et al., 1993).

Organismy mohou zvyšovat spektrum využívaných zdrojů i díky tomu, že využívat některé zdroje může být velmi snadné (není pro to třeba speciálních přizpůsobení) a i pro specialistu pak může být výhodné zařadit takový zdroj do svého repertoáru (Robinson & Wilson, 1998).

Nelze univerzálně stanovit, zda v průběhu evoluce dochází spíše ke zvyšování specializace nebo k rozšiřování spektra využívaných zdrojů (Poulin et al., 2006). Podle některých studií zabývajících se hostitelskou specializací u baboček (Nymphalini) je standardní situací specializace, která je občas přerušena fází, kdy druh zvyšuje spektrum využívaných zdrojů a

stává se tak na nějaký čas generalistou. Opětne snižování hostitelů je pak spojeno i se vznikem nových druhů – specialistů (Janz et al., 2001; Janz et al., 2006).

V závěru této kapitoly je potřeba upozornit na to, že většina studií zabývajících se specializací na zdroje řeší buď situaci vztahu herbivorního hmyzu k živným rostlinám nebo systém parazit – hostitel a je otázkou, zda lze výsledky těchto prací zobecňovat i na ostatní ekologické vztahy. Pro parazity a herbivorní hmyz je charakteristické, že jsou často velmi úzce specializovaní a dva příbuzné druhy málokdy využívají stejného hostitele. Což neplatí například pro predátory nebo velké býložravce (Kawecki, 1998). Závěry z této kapitoly lze jen velmi omezeně použít i na případy, ve kterých jako zdroj považujeme neživé věci (místo na hnízdění, úkryt,...). Navíc neexistuje žádná univerzální definice specialisty nebo generalisty. U každé fylogenetické i ekologické skupiny je potřeba tuto otázku posuzovat zvlášť, protože pro tak rozsáhlou a rozmanitou síť vztahů, která se v přírodě nachází, můžeme jen těžko vytvořit nějaké univerzální měřítko. Jak v dané skupině specialistu nebo generalistu definujeme by mělo záviset především na tom, do jaké míry jsou pro dané organismy zdroje rozlišitelné a jak velké přizpůsobení je vyžadováno pro jejich využívání (jak náročné je zdroje využívat).

2.1.5 Specializace u včel

2.1.5.1 Pylová specializace

Včely jsou jedni z nejvýznamnějších opylovačů. Dospělé samice nevyužívají pyl jenom jako vlastní potravu, ale především jej shromažďují jako potravu pro larvy. Množství pylu, které samice na květech nasbírají proto může být poměrně velké a díky specializovaným strukturám pro přenos pylu, jako jsou sběrací košíčky, nemusí být opylování příliš efektivní. V takovém případě jsou včely spíše herbivory než opylovači (Michener, 2007).

Většina eusociálních druhů a i mnoho solitérních druhů je pylovými generalisty, kteří sbírají pyl z více druhů rostlin náležejících i do různých čeledí. Mezi včelami jsou ale zastoupené i specializované druhy sbírající pyl pouze na rostlinách náležejících do stejného rodu, případně čeledi (Michener, 2007).

Výhodnost generalistické strategie je zřejmá. Včela není závislá jen na úzkém spektru hostitelských rostlin (Moldenke, 1975). Faktorů podporujících vznik specializované strategie může být několik:

- **Omezení mezidruhové kompetice** – specializace umožňuje lepší rozdělení zdrojů mezi jednotlivé druhy a snižuje tak mezidruhovou kompetici (Michener, 1979).
- **Obrana rostlin proti vykrádání pylu** – jak bylo řečeno výše, některé včely mohou být s ohledem na množství pylu, které seberou a nízkou efektivitu opylování vnímány spíše jako herbivoři než opylovači. Čemuž se rostliny snaží zabránit tím, že vyvíjejí překážky, které mohou úspěšně překonat pouze specializované druhy (Müller et al., 2006). Pokud má rostlina specializované opylovače, zvyšuje to její šanci, že bude skutečně opylována, protože včela sebraný pyl pravděpodobněji přenese na rostlinu stejného druhu. Překážky zabraňující využívání pylu jakýmkoliv druhem mohou být dvojího druhu: morfologicko – behaviorální nebo fyziologické. Morfologicko – behaviorální překážky jsou takové, které zabraňují jedinci dostat se k pylu, pokud není speciálně morfologicky přizpůsobený nebo nevykazuje určitý typ chování umožňujícího pyl získat (Thorp, 2000). Fyziologickými překážkami je myšlena především toxicita pylu. U několika druhů včel bylo prokázáno, že larvy se nejsou schopné na pylu určitých druhů rostlin vyvinout. Pyl toxický pro jeden druh včely může nicméně jiný druh využívat bez problémů (Williams, 2003; Praz et al., 2008; Sedivy et al., 2011).

Úspěšně opylovat mohou ovšem i generalisté, protože při sbírání pylu se samice vždy zaměří na jeden konkrétní rostlinný druh. Samice tedy nepřelétává z jednoho druhu na jiný, ale střídá hostitelské druhy po delších intervalech. Tento i u jiných opylovačů velmi častý jev, nazývaný „flower constancy“, je výhodný tím, že se opylovač může zaměřit jen na menší soubor znaků, které vyhledává (určitá barva, tvar květu, ...) a může díky tomu prohledávat prostor rychleji a efektivněji (Chittka et al., 1999).

2.1.5.2 Hostitelská specializace u kukaččích včel

Většina kukaččích včel je specializovaných na jednoho nebo jen několik málo blízce příbuzných hostitelských druhů. Existují zde ale i generalisté s velkým množstvím hostitelů náležejících do různých rodů nebo i čeledí (Bogusch, 2003; Bogusch et al., 2006). U dvou generalistických druhů - *Sphecodes ephippius* (Linnaeus, 1767) a *Sphecodes monilicornis* (Kirby, 1802) byla zaznamenána individuální specializace. Každý z těchto druhů má přes deset různých hostitelů, nicméně samice byly pozorovány, jak opakovaně parazitují pouze

v hnízdech jediného hostitelského druhu (Bogusch et al., 2006). Je otázkou, jak moc může být tento jev u kukaččích včel rozšířený, protože u jiných generalistických druhů nebyla tato možnost zkoumána.

2.2 Kukaččí chování

2.2.1 Definice pojmů

Termín kukaččí včely je v této práci používán pro včely, které kladou vajíčka do cizích hnízd a tím pádem využívají pylových zásob nashromážděných hostitelem pro výživu vlastních potomků. V hnízdě svého hostitele dospělé samice dlouhodobě nepobývají.

V souvislosti s tímto typem chování se běžně používá několik dalších pojmů, jejichž definice je často problematická, a proto bych se jim chtěla na začátku této kapitoly krátce věnovat.

2.2.1.1 Parazitismus

Definicí parazitismu je mnoho a v závislosti na šíři definice lze za parazity považovat různě velkou část žijících organismů. Asi nejčastěji se parazit definuje jako organismus žijící na nebo v jiném organismu (hostiteli), kterého využívá pro svoji výživu, škodí mu, ale nezabíjí ho. Zároveň parazit vykazuje určitý stupeň strukturální adaptace na svého hostitele (Poulin, 2007). Podle této definice nemůžeme kukaččí včely považovat za parazity, jelikož nejsou v přímém kontaktu se svými hostiteli. Existují ale i širší definice parazitismu. Například Begon et al. (2006) uvádí, že parazit je jedinec, který získává živiny od jiného organismu (hostitele), kterému tím škodí, ale nezpůsobuje mu ihned smrt. Takováto širší definice zahrnuje i behaviorální parazity, kteří sice nejsou na svém hostiteli přímo fyziologicky závislí, ale přesto ho ke svému vývoji potřebují a určitým způsobem mu škodí. Za behaviorální parazity lze považovat i kukaččí včely.

2.2.1.2 Klektoparazitismus

Klektoparazitismus v širším slova smyslu znamená krádež jakéhokoliv zdroje (potravy, hnízdního materiálu, hnízda) jinému organismu - hostiteli, který na jeho získání vynaložil určité množství energie (Iyengar, 2008). Přičemž klektoparazit musí mít z krádeže užitek a hostitel jí musí být naopak negativně ovlivněn (jinak by se jednalo o kleptobiosu – viz Vollrath, 1984). Klektoparazitismus je tak jedním z typů parazitického chování - pokud uvažujeme širší definici parazitismu (např. Begon et al., 2006).

U žahadlových blanokřídlých se vyskytuje několik druhů kleptoparazitického chování (dělení podle Field, 1992 a Straka, 2009):

- **Krádež zásob** – zahrnuje případy, kdy kleptoparazit ukradne potravu z hnízda hostitele nebo kdy je krádež uskutečněna v období mezi obstaráním potravy a jejím přenesením do hnízda.
- **Usurpace** – zahrnuje krádež hnízda nebo prostoru pro hnízdění.
- **Hnízdní parazitismus (brood parasitism, kukaččí chování)** – zahrnuje případy, kdy kleptoparazit naklade své vajíčko do cizího hnízda a jeho potomek se živí potravou určenou pro potomka hostitele. Hnízdní parazitismus je dobře známý především u ptáků (např. Payne, 1977), a proto se v souvislosti s tímto typem parazitismu často hovoří o kukaččím chování a v případě včel tedy o **kukaččích včelách**.
- **Sociální parazitismus** – zahrnuje hnízdní parazity, kteří parazitují u sociálních hostitelů. Jedná se o komplexní chování které kombinuje usurpaci hnízda, hnízdní parazitismus a sociální chování (Straka, 2009). Sociální parazité, na rozdíl od kukaččích včel, dlouhodobě žijí v hnízdě se svým hostitelem (Weislo, 1987).

2.2.2 Kukaččí chování u včel

Kukaččí chování je u včel poměrně rozšířeným jevem. Obligátní kukaččí druhy najdeme ve čtyřech ze sedmi čeledí včel (Michener, 2007) a v současné době se uvažuje až 24 nezávislých vzniků tohoto chování (Cardinal et al., 2010; Michener, 2007; Straka & Bogusch, 2007a). Mimoto se u neparazitických druhů vyskytuje i intraspecifická fakultativní forma kukaččího chování (Field, 1992).

Kukaččí druhy včel si nepotřebují stavět své vlastní hnízdo, ani zásobit buňky pylem, jako jiné, „poctivé“ včely. Nicméně, aby se úspěšně rozmnožily musí se vypořádat s jinými problémy: (1) najít hnízdo svého hostitelského druhu a proniknout do něj, (2) naklást do vhodné buňky své vajíčko, (3) eliminovat potomky hostitele, případně i další kompetitory o pylové zásoby v buňce (například potomky jiných kukaččích včel). Kukaččí včely používají různé strategie vedoucí k úspěšné parazitaci hostitelské buňky (podrobnější přehled viz Habermannová, 2009). Straka (2009) rozlišuje čtyři typy parazitických strategií a podle nich pak dělí kukaččí včely na: (1) včely kladoucí do otevřených buněk („openers“), (2) včely kladoucí do uzavřených buněk („embedders“), (3) včely kladoucí do otevřených, ale již plně zásobených buněk („enclosers“) a (4) včely používající agresivní parazitickou strategii („exterminators“).

2.2.2.1 Kukaččí včely kladoucí do uzavřených buněk („openers“)

Včely s touto parazitickou strategií kladou vajíčka do již hostitelem uzavřených a plně zásobených buněk. Buňku otevřou pomocí mandibul (Garófalo & Rozen, 2001) nebo zašpičatělé koncové části zadečku (Rozen & Özbek, 2005), nakladou do ní vajíčko a znovu ji uzavřou.

Dospělé samice kukaččích včel s touto strategií mají možnost při kladení vlastního vajíčka zneškodnit vajíčko či larvu hostitele, případně i jiných kukaččích včel, které vajíčko do buňky nakladly před nimi. Často tak pomocí mandibul (Bennett, 1966, 1972) nebo žihadla (Garófalo & Rozen, 2001; Rozen et al., 2006) činí. U některých druhů je známo, že přestože dospělá samice vajíčka či larvy ostatních kompetitorů v buňce při kladení vlastního vajíčka zabíjí, je k zabíjení uzpůsobená i larva prvního nebo druhého instaru (Garófalo & Rozen, 2001; Rozen et al., 2006). To může představovat výhodu v případě, kdy do buňky později naklade vajíčko i jiný druh kukaččí včely. Existují i druhy, které sice kladou vajíčka do uzavřených buněk, ale dospělá samice vajíčka či larvy v buňce nezabíjí a o jejich eliminaci se stará výhradně parazitická larva (Alves-dos-Santos et al., 2002).

Vajíčka včel s touto parazitickou strategií vypadají podobně jako vajíčka nekukaččích druhů. Mají normální protáhlý zaoblený tvar, tenký chorion a nejsou výrazně menší (Rozen, 2003).

Kukaččí včely kladoucí do uzavřených buněk jsou známy v čeledi Halictidae, Megachilidae a v podčeledi Apinae (jedna ze dvou podčeledí čeledi Apidae) (Rozen, 2003).

2.2.2.2 Kukaččí včely kladoucí do otevřených buněk („embedders“)

Včely s touto parazitickou strategií kladou vajíčka do otevřených buněk, které ještě nejsou plně zásobené. Kukaččí včela v tomto případě potřebuje, aby hostitel zaparazitovanou buňku normálně dozásobil pylem a uzavřel, a proto musí vajíčko do buňky schovat tak, aby si ho hostitel nevšiml. V opačném případě by ho totiž mohl zničit (Rozen, 1986; Rozen & Snelling, 1986; Rozen & Roig-Alsina, 1991), nebo by mohl celou buňku zaplnit zemí (Rozen, 1977; Rozen & Snelling, 1986). Vajíčka jsou proto nejčastěji kladena do stěny buňky (Rozen & Snelling, 1986; Rozen, 1992). Navíc jsou vajíčka těchto včel velmi malá (Rozen, 2003) a na povrchu, který je obrácený dovnitř buňky mají chorion strukturovaný tak, že připomíná materiál, ze kterého je buňka vyrobena (Rozen et al., 1997, Rozen 2003).

U kukaččích včel s touto strategií zabíjí potomky hostitele vždy larva, protože parazitická samice klade vajíčko do buňky, která ještě hostitelské vajíčko neobsahuje. K zabíjení je většinou přizpůsobený první larvální instar, který vykazuje morfologické adaptace k tomu,

aby mohl cizí larvy či vajíčka nalézt (modifikace koncové části zadečku umožňující lezení), zabít je (zvětšená kusadla a kusadlové svaly) a aby byl před ostatními kompetitory v buňce dostatečně chráněn (sklerotizovaná hlavová kapsule) (Rozen, 1991).

Tato parazitická strategie se vyskytuje u čeledi Apidae a to u všech tribů z podčeledi Nomadinae a u některých tribů z podčeledi Apinae (Rozen, 2003).

2.2.2.3 Kukaččí včely kladoucí do otevřených, ale již plně zásobených buněk („enclosers“)

Samice druhu *Epeoloides coecutiens* Fabricius, 1775 pravděpodobně klade vajíčko do hostitelské buňky, která je již plně zásobená, ale ještě není uzavřená. Po nakladení vajíčka kukaččí včela buňku, a někdy i celé hnízdo, uzavře sama (Straka & Bogusch, 2007b). Podobná strategie se příležitostně vyskytuje i u druhu *Melecta albifrons* (Foerster, 1771) (Straka, vlastní pozorování).

2.2.2.4 Kukaččí včely používající agresivní parazitickou strategii („exterminators“)

Tato strategie se vyskytuje u druhu *Sphecodes monilicornis*, který je schopný parazitovat hnízda jak solitérních, tak sociálních hostitelů. V případě, že parazituje v hnízdě sociálního druhu, zabije jedince strážící vchod a následně pak i všechny včely vyskytující se uvnitř. Díky tomu, že samice hnízdo kompletně vyvraždí, má dostatek času k tomu, aby nakladla vajíčka do všech vhodných buněk. Buňky po nakladení vajíčka uzavře (Sick et al., 1994). Samice je k zabíjení dobře přizpůsobená mohutnými mandibulami a zvětšenými mandibulárními svaly (Michener, 2007). Není známý žádný jiný druh s touto strategií, ale jsou známy druhy, které mají podobná morfologická přizpůsobení (Straka, 2009).

2.2.3 Kukaččí chování u jiných skupin živočichů

2.2.3.1 Ptáci

Přibližně 1% ze všech druhů ptáků tvoří hnízdní paraziti, mezi něž patří polovina všech druhů kukaček, dva rody pěnkav, pět druhů vlhovců a jeden druh kachny (Payne, 1977). Vajíčka kukaččích druhů ptáků jsou hostitelem zahřívána a následně jsou parazitická mláďata hostitelem krmena. Naprostá většina hnízdních parazitů má altriciální mláďata, která jsou plně závislá na péči a výživě od hostitele. Výjimku tvoří parazitický druh kachny (*Heteronetta atricapilla* Merrem, 1841), který má prekociální mláďata, která jsou již po několika dnech od vylíhnutí zcela samostatná a na péči od hostitelské samice nezávislá (Rees & Hillgarth, 1984). Hnízdní parazit tak v tomto případě využívá hlavně energie, kterou hostitel vkládá do zahřívání vajíček.

Dospělé parazitické samice při kladení vlastního vajíčka často likvidují jedno či více hostitelských vajíček v hnízdě. Stejně tak většinou činí i vylíhlá parazitická mláďata, která ještě navíc často diskriminují zbývajících hostitelská mláďata monopolizováním rodičovské péče (Payne, 1977).

2.2.3.2 Ryby

Jediným obratlovcem, vyjma ptáků, u kterého bylo pozorováno kukaččí chování, je endemický druh ryby z jezera Tanganika Peřovec kukaččí (*Synodontis multipunctatus*, Boulenger 1898). Jikry tohoto parazitického druhu se vyvíjejí v ústní dutině Cychlid společně s jikrami hostitele, ale líhnou se dříve a následně se živí požíráním hostitelských jiker nebo potěru (Sato, 1986).

2.2.3.3 Členovci

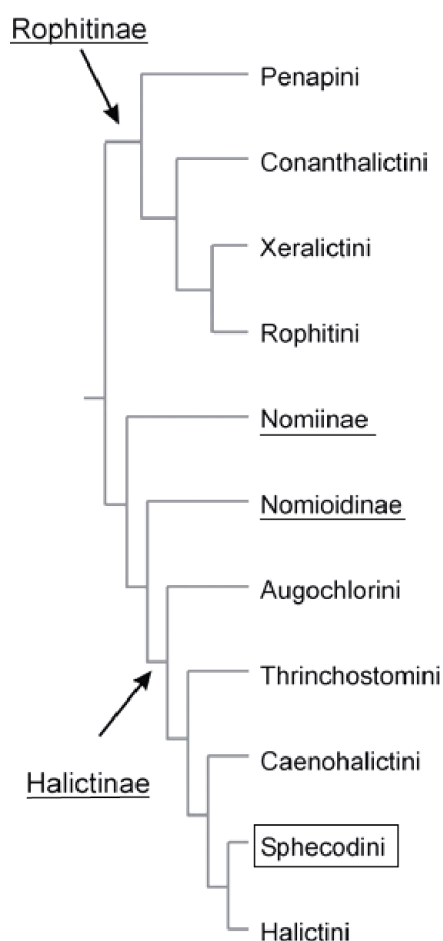
Hnízdní parazitismus je známý u některých druhů pavouků (Boulton & Polis, 2002) a u některých roztočů (Krombein, 1967). Dále se kukaččí druhy vyskytují u hmyzu a to mezi brouky (Hammond, 1976; Alm & Kurczewski, 1984; Trumbo et al., 2001), dvoukřídlými (Hull, 1973; Krombein, 1967) a blanokřídlými (Field, 1992). U blanokřídlého hmyzu najdeme kukaččí druhy nejen u včel, ale i u některých druhů kutilek, hrabalek a zlatěnek (Field, 1992; O'Neill, 2001).

2.3 Tribus Sphecodini

2.3.1 Fylogeneze a systém

Tribus Sphecodini patří do čeledi Halictidae, která je jednou z celkově sedmi čeledí včel (Apiformes) (Michener, 2007). V rámci této čeledi je řazen do podčeledi Halictinae, ve které tvoří spolu se sesterským tribem Halictini korunovou skupinu (viz obrázek 2) (Danforth et al., 2008).

Do tohoto tribu jsou řazeny taxony *Sphecodes*, *Microsphecodes*, *Austrosphecodes*, *Eupetersia* a *Ptilocleptis* Michener, 1978, přičemž jejich vzájemné vztahy jsou nejasné. Předpokládá se, že rody *Eupetersia* a *Ptilocleptis* by mohly tvořit bazální linii tohoto tribu, což je odůvodněno přítomností pravděpodobně pleziomorfních morfologických znaků. *Austrosphecodes* je většinou považovaný za podrod rodu *Sphecodes*. *Microsphecodes* je buď považovaný za samostatný rod, jehož postavení v rámci tribu je nejasné, nebo je považovaný za odvozenou skupinu taxonu *Austrosphecodes* (Michener, 2007). Fylogeneze tribu Sphecodini ovšem nebyla dosud v žádné studii podrobně řešena.



Obrázek 2: Zařazení tribu Sphecodini do čeledi Halictidae (Danforth et al., 2008)
Názvy podčeledí jsou podržené.

2.3.2 Parazitické strategie

Tribus Sphecodini tvoří výhradně parazitické druhy. V naprosté většině případů se jedná o kukaččí druhy. U některých zástupců tohoto tribu – například rod *Microsphecodes*, ale není jasné, zda se nejedná spíše o sociální parazity (Michener, 2007). Druh *Sphecodes monilicornis* má velmi specifické chování, jelikož k úspěšnému nakladení vajíčka do cizího hnízda používá agresivní strategii (Sick et al., 1994; Straka, 2009) (viz kapitola č. 2.2.2.4). Ostatní zástupci rodu *Sphecodes* se běžně řadí mezi kukaččí včely kladoucí do uzavřených buněk (Bohart, 1970; Rozen, 2003; Bogusch et al., 2006; Michener, 2007), nicméně v žádné práci nelze dohledat doklad potvrzující toto tvrzení.

2.3.3 Hostitelská specializace

Většina zástupců této čeledi parazituje na několika blízce příbuzných hostitelských druzích. Nejširší hostitelské spektrum mají druhy *Sphecodes ephippius* a *Sphecodes monilicornis*, u

kterých byla pozorována individuální specializace (Bogusch et al., 2006). Některé druhy, jako například *Sphecodes crassus* nebo *Sphecodes gibbus*, sice parazitují pouze u zástupců náležejících do stejného hostitelského rodu, nicméně tito zástupci jsou ekologicky velmi odlišní a proto je lze považovat spíše za generalisty než za specialisty.

Zajímavá je situace u druhu *Sphecodes albilabris*, který běžně parazituje u druhu *Colletes cunicularius* (Blüthgen, 1934; Westrich, 1989), nicméně Rozen (1965) zaznamenal, že je schopný parazitovat i u druhu *Melitturga clavicornis*. Přičemž podle špatného stavu křídel parazitických samic, je pravděpodobné, že se nejednalo o druhou generaci, ale o velmi staré jedince z první generace.

U části druhů z tohoto tribu nejsou hostitelé doposud známí. To se týká především druhů, které nespádají do rodu *Sphecodes*. Navíc je potřeba zvažovat důvěryhodnost jednotlivých dat o hostitelské specializaci. Úplně potvrzený hostitel může být pouze tehdy, pokud se podaří najít parazitickou larvu, kuklu nebo ještě nevyklíčeného dospělce přímo v hostitelském hnízdě. Pokud bylo pozorováno, že kukaččí včela navštěvuje hnízda určitého hostitelského druhu a zvláště pokud byl zaznamenán i delší pobyt v některém z těchto hnízd, můžeme takového hostitele uvažovat jako velmi pravděpodobného. Opatrnost je potřeba při záznamech o hostitelské specializaci založených pouze na skutečnosti, že se jedinci na určité lokalitě vyskytují společně.

Podrobný přehled hostitelské specializace u druhů použitých v této práci je uveden v Příloze 1.

3. Materiál a metodika

3.1 Data a materiál

Všechny vzorky, které byly použité pro analýzy jsou uvedeny v Příloze 2 a 3. V Příloze 2 jsou uvedeny vzorky sekvenované v této práci a to včetně lokality, data sběru a sběratele. Všechny determinace provedl Jakub Straka. Taxony, u kterých byla příslušná molekulární data získána z databáze NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>), jsou uvedeny v Příloze 3 včetně přístupových kódů daných sekvencí. Vědecké názvy taxonů použitých v analýzách jsou uvedeny v Příloze 6.

3.2 Určování hostitelské specializace

Přehled hostitelů od kukaččích druhů rodu *Sphecodes* použitých v analýzách je uveden v Příloze 1 včetně zdrojů, ze kterých byly tyto informace přejaty.

3.2.1 Analýza ancestrálních hostitelů

Pro analýzu ancestrálních hostitelů byly jako stejní hostitelé uvažovány všechny druhy patřící do jednoho rodu (*Andrena*, *Colletes*, *Perdita*, *Melitturga*). Výjimku tvořili rody *Lasioglossum* a *Halictus*, které byly vzhledem k velkému počtu a různorodosti druhů rozděleny do dvou skupin:

- *Lasioglossum* sensu stricto – podrod *Lasioglossum*
- *Lasioglossum* ostatní podrody – podrody, které nenáleží do linie vedoucí k *Lasioglossum* sensu stricto
- *Halictus* podrod *Halictus*
- *Halictus* podrod *Seladonia*

Konkrétní přiřazení hostitelů k daným kukaččím druhům použité v analýze je uvedeno v Příloze 1.

3.2.2 Analýza vývoje hostitelské specializace

Pro tuto analýzu byly kukaččí druhy rozděleny na specialisty a generalisty. Protože je zařazení mezi tyto dvě kategorie u některých druhů diskutabilní, byly vytvořeny 3 alternativní rozdělení, které se liší použitými definicemi specialisty a generalisty. Konkrétní rozdělení jednotlivých druhů mezi specialisty a generalisty lze nalézt v Příloze 1.

3.2.2.1 Definice specialisty a generalisty

Rozdělení č. I – volnější definice specialisty

Jako specialisté jsou v tomto případě označeny druhy, které mají všechny hostitele stejného rodu. Přičemž nezáleží na tom, zda jsou si tyto hostitelé podobní ekologicky. Mezi specialisty jsou řazeny i druhy, u nichž je zaznamenán hostitel náležející k odlišnému rodu, ale tento hostitel je buď hodně nejistý nebo u něj kukaččí včela parazituje pouze v ojedinělých případech.

Jako generalisté jsou v tomto případě označeny druhy, které parazitují u širokého spektra hostitelských druhů, které náležejí do různých rodů i různých čeledí.

Podle těchto kritérií jsou téměř všechny druhy zahrnuté v analýze specialisté. Jako generalisty můžeme v tomto případě označit jen druhy *Sphecodes ephippius* a *Sphecodes monilicornis*.

Rozdělení č. II – hlavní analýza

Za specialisty jsou v tomto případě považovány druhy, jejichž hostitelé náležejí do stejného rodu a zároveň jsou si i ekologicky podobní. Mezi specialisty jsou zároveň zařazeny i druhy, u kterých byl zaznamenán i hostitel z jiného rodu. Nicméně tento hostitel je buď hodně nejistý nebo u něj kukaččí včela parazituje pouze v ojedinělých případech.

Mezi generalisty se v tomto případě řadí druhy, které parazitují u fylogeneticky nebo ekologicky odlišných hostitelů.

Podle tohoto rozdělení lze za generalisty označit pět druhů z celkem třiceti kukaččích druhů, které byly v analýze použity a u kterých jsou hostitelé známi.

Rozdělení č. III – nejstriktnější definice specialisty

Jako specialisté jsou označeny pouze druhy, které parazitují na fylogeneticky i ekologicky příbuzných hostitelích.

Za generalisty jsou považovány druhy, u kterých jsou zaznamenáni hostitelé z různých rodů a dále i druhy, které mají hostitele sice jen z jednoho rodu, ale tito hostitelé jsou ekologicky odlišní.

Podle těchto kritérií může být za generalisty považována třetina z kukaččích druhů zahrnutých v analýze.

V hlavní analýze bylo použito rozdělení č. II. Podle rozdělení č. I a č. III byly rekonstruovány ancestrální stavy jen v několika klíčových nodech.

3.3 Získávání molekulárních dat

3.3.1 Izolace DNA

U většiny vzorků, které byly uchovány v 96% ethanolu, byla pro izolaci DNA použita část abdomenu. Někteří, většinou menší jedinci, byli použiti celí, přičemž jejich tělo bylo rozděleno na tři části. Použité části těla byly po izolaci opět uloženy do 96% ethanolu, aby byla možnost je v případě nejisté determinace znovu přeurčit. Suché preparáty nebo vzorky, ze kterých bylo pouze s použitím části abdomenu získáno nedostatečné množství DNA, byly celé homogenizovány.

DNA byla izolována kitem DNeasy Blood & Tissue Kit (Qiagen) podle protokolu „Purification of Total DNA from Animal Tissues (Spin Column Protocol)”.

3.3.2 Amplifikace DNA

Cílové úseky DNA byly amplifikovány metodou polymerázové řetězové reakce (PCR) za použití specifických primerů.

Reakční směs byla namíchána jedním z níže uvedených způsobů:

Varianta 1:

- 0,25 µl aTaq DNA polymeráza (5U/µl)
- 5 µl dNTPs (2 mM)
- 5 µl Thermophilic DNA Polymerase 10X Reaction Buffer, Mg-Free
- 6 µl Mg Cl₂ (2 mM)
- 2,5 µl primer forward (10 µM)
- 2,5 µl primer reverse (10 µM)
- 1-6 µl templátová DNA
- doplnit do 50 µl dd H₂O

Varianta 2:

- 25 µl PPP Master Mix bez MgCl₂
- 5-6 µl MgCl₂ (2 mM)
- 2,5 µl primer forward (10 µM)
- 2,5 µl primer reverse (10 µM)
- 2-6 templátová DNA
- doplnit do 50 µl dd H₂O

PCR reakce byla prováděna v termocycleru Bio-Rad: C 1000 Thermal Cycler nebo Eppendorf Mastercycler.

Amplifikovány byly úseky genů Cytochrom oxidáza podjednotka 1 (COI), Elongation factor-1 alpha (EF1), Wingless (WG), 28S ribozomální podjednotka (28S) a Long-wavelength rhodopsin (LWR). Geny COI, EF1 a WG byly amplifikovány od všech vzorků. Geny 28S a LWR byly amplifikovány vždy od jednoho jedince daného druhu. Seznam použitých primerů včetně publikací, ze kterých byly jejich sekvence převzaty je uveden v tabulce 1. V tabulce 2 jsou zaznamenány teplotní podmínky PCR reakcí pro jednotlivé geny. U genu COI byly používány různé kombinace uvedených primerů. Často zde byla použita i sekundární amplifikace. V takovém případě byla po první PCR reakci, provedena ještě druhá s vnitřními primery a jako templátová DNA byl použit výsledný produkt z první reakce. Při druhé PCR

reakci byla annealingová teplota zvýšena o 10-15°C oproti reakci první. Délka získaného produktu byla u COI 900 – 1000 bp, případně byly získány dva na sebe navazující úseky dlouhé 450 – 550 bp. U EF1 byl získaný úsek dlouhý 1100 bp, u WG 450 bp, u 28S 420 bp a u LWR byly amplifikovány 1-3 produkty o délce 400-1100 bp.

Tabulka 1: Přehled použitých primerů

Gen	Název primeru	Orientace	Sekvence primeru 5' → 3'
COI	AP-J-1991 (Straka, 2005)	Forward	TAT AGT TAT ACC ATT TTA ATT G
	AP-J-2013 (Straka, 2005)	Forward	GGA GGA TTT GGA AAT TGG CTT ATT CC
	AP-J-2511 (Straka, 2005)	Forward	GAA GTT TAT ATT TTA ATT TTA CCT GG
	AP-N-2536 (Straka, 2005)	Reverse	CCA GGT AAA ATT AAA ATA TAA ACT TC
	AP-N-2950 (Straka, 2005)	Reverse	GCA AAT ACA GCA CTT ATT GA
	AP-N-2980 (Straka, 2005)	Reverse	GGA WAT CCA TGA ATA AAT CTT G
	Ron (Danforth, 1999)	Forward	GGA TCA CCT GAT ATA GCA TTC CC
	Pat (Danforth, 1999)	Reverse	TCC AAT GCA CTA ATC TGC CAT ATT A
EF1	HaF2For1 (Danforth et al., 1999)	Forward	GGG YAA AGG WTC CTT CAA RTA TGC
	F2-Rev1 (Danforth et al., 1999)	Reverse	A ATC AGC AGC ACC TTT AGG TGG
WG	beewgFor (Danforth et al., 2004)	Forward	TGC ACN GTS AAG ACC TGY TGG ATG AG
	Lep wg2a (Danforth et al., 2004)	Reverse	ACT ICG CAR CAC CAR TGG AAT GTR CA
LWR	Opsin For (=LWRhFor) (Danforth et al., 2004)	Forward	AAT TGC TAT TAY GAR ACN TGG GT
	Opsin Rev (=LWRhRev) (Danforth et al., 2004)	Reverse	ATA TGG AGT CCA NGC CAT RAA CCA
28S	D3F (Schulmeister, 2003)	Forward	GAC CCG TCT TGA AAC ACG GA
	D5R (Schulmeister, 2003)	Reverse	CCC ACA GCG CCA GTT CTG CTT ACC

Tabulka 2: Teplotní nastavení PCR u jednotlivých genů
Tučně je označena annealingová teplota.

Gen	Nastavení teplotních podmínek PCR
COI	94°C 5min → 40x(94°C 1min → 37 - 50°C 1min → 72°C 1min 50s) → 72°C 5min
EF1	94°C 5min → 35x(94°C 1min → 54 - 60°C 1min → 72°C 1min 50s) → 72°C 5min
WG	94°C 5min → 35x(94°C 45s → 58°C 45s → 72°C 45s) → 72°C 5min
LWR	94°C 5min → 35x(94°C 1min → 52 - 60°C 1min → 72°C 1min) → 72°C 5min
28S	94°C 5min → 35x(94°C 45s → 52°C 45s → 72°C 45s) → 72°C 5min

3.3.3 Elektroforéza

Výsledky PCR byly ověřeny horizontální elektroforézou. Amplifikovaná DNA byla nanesena na 1% agarózový gel a zviditelněna Ethidiumbromidem pod UV světlem. Paralelně s výsledným PCR produktem byl na gel nanesen i délkový standart Gene Ruler™ 100bp DNA Ladder (Fermentas). Výsledný obraz byl vyfotografován digitálním fotoaparátem a zpracován v programu Alpha Digi Doc RT.

3.3.4 Purifikace PCR produktů

Pokud se při PCR amplifikoval pouze jeden fragment, byl PCR produkt přečištěn pomocí QIAquick PCR Purification Kitu (Qiagen) podle protokolu „QIAquick PCR Purification Kit Protocol using microcentrifuge“ nebo pomocí PCRExtract Mini Kitu (5Prime) podle protokolu „Purifying DNA from PCR samples using the PCRExtract Mini Kit“.

U genu LWR se většinou amplifikovaly 2-3 fragmenty. V takovém případě byl nejsilnější svítící fragment vyříznut z agarózového gelu a následně přečištěn pomocí kitu Zymoclean™ Gel DNA Recovery Kit (Zymo Research) podle výrobcem přiloženého protokolu.

Koncentrace DNA ve výsledných produktech byla měřena spektrofotometrem Nanodrop® ND-1000.

3.3.5 Sekvence

Vzorky byly sekvenovány buď Laboratoří sekvenace DNA PřF UK nebo firmou Macrogen. Příprava vzorků pro Laboratoř sekvenace DNA PřF UK:

- primer forward/reverse - 1 µl
- templatová DNA – množství podle délky fragmentu a koncentrace DNA ve výsledném produktu (100ng DNA na 1000bp)
- dd H₂O – doplnit do 14 µl

3.4 Analýzy získaných dat

3.4.1 Vyhodnocování sekvencí a tvorba alignmentu

Vyhodnocování chromatogramu ze sekvenátoru bylo prováděno v programu 4Peaks 1.7.2 (Griekspoor & Groothuis, 2006) nebo Chromas Lite 2.01. Každý vzorek byl sekvenován ve dvou směrech (forward a reverse). Forward a reverse sekvence byly vzájemně zkontrolovány a spojeny v programu BioEdit v. 7.0.9 (Hall, 1999). Výsledné sekvence byly alignovány ručně v Programu BioEdit v. 7.0.9 (Hall, 1999), alignmenty byly na obou stranách zkráceny tak, aby všechny sekvence začínaly a končily na stejné pozici. U genu LWR byly smazány oblasti intronu, u kterých nebyla jistá správnost alignmentu.

Pomocí webové aplikace FaBox (1.35) (Villesen, 2007) byly vytvořeny dva konkatenované alignmenty:

Alignment č. 1 – konkatenovaný alignment genů COI, EF1, WG, 28S a LWR. Od každého druhu je v něm zahrnutý jeden vzorek a navíc některé neurčené vzorky (podrobný přehled viz Příloha 2). Celková délka 3678 bp.

Alignment č. 2 – konkatenovaný alignment genů COI, EF1 a WG. Obsahuje všechny vzorky, od kterých byly tyto sekvence získány, což znamená, že od některých druhů je zahrnuto více jedinců z různých lokalit (podrobný přehled viz Příloha 2). Od každého druhu byli použiti alespoň 2 jedinci, pokud byli k dispozici. Více jedinců bylo použito zejména u druhů, které jsou morfologicky nebo ekologicky velmi různorodé a nebo se obtížně určují (*Sphecodes monilicornis*, *S. epphipius*, *S. crassus*, *S. pelucidus*, *S. gibbus*, *S. rufiventris*) a dále pak u druhů *Sphecodes marginatus* a *Sphecodes miniatus*, jejichž samice jsou od sebe morfologicky jen velmi těžko rozlišitelné. Celková délka 2428 bp.

Jako outgroup byli u obou alignmentů použiti zástupci ostatních podčeledí a tribů čeledi Halictidae (podčeleď Rophitinae, Nomiinae, Nomiodinae, Halictinae - triby Augochlorini, Halictini, Caenohalictini). Všechny sekvence těchto druhů byly staženy z databáze NCBI (podrobný přehled viz Příloha 3).

Z formátu FASTA byly konkatenované alignmenty pomocí webové aplikace FaBox (1.35) (Villesen, 2007) převedeny do formátu NEXUS a pomocí programu Mesquite 2.74 (Maddison & Maddison, 2010) do formátu PHYLIP.

3.4.2 Fylogenetické analýzy

3.4.2.1 Bayesovská analýza

Bayesovská analýza byla prováděna v programu MrBayes (Huelsenbeck & Ronquist, 2001). Byl použit substituční model GTR + Γ + I s tím, že hodnoty parametrů byly nastaveny pro každý gen odděleně. U genu COI byly parametry nastaveny odděleně pro každou pozici v kodónu, u genu 28S byly odděleně nastaveny parametry pro pozice tvořící stem a pro pozice tvořící loop. U ostatních jaderných genů byly zvlášť nastaveny parametry pro 1. a 2. pozici v kodónu, pro 3. pozici v kodónu a pro pozice náležející intronu.

Počet generací Markov chain Monte Carlo (mcmc) byl 20 milionů u alignmentu č.1 a 15 milionů u alignmentu č. 2.. Ukládán byl každý 1000. strom u alignmentu č. 1 a každý 100. strom u alignmentu č. 2.

Z výsledných stromů bylo jako burn-in odstraněno prvních 25% a ze zbylých stromů byl vypočítán konsenzuální strom.

3.4.2.2 Maximální věrohodnost (Maximal Likelihood)

Analýza metodou maximální věrohodnosti byla počítána v programu RAxML (Stamatakis, 2006). Byl použit substituční model GTR + Γ (-m GTRGAMMA). Hodnoty parametrů byly nastaveny pro každý gen, případně pozici, odděleně (stejně rozdělení jako v Bayesovské analýze, která je popsána výše). Nejprve byl vybrán nejlepší fylogenetický strom a poté proběhla bootstrapová analýza, při které bylo zkonstruováno 1000 bootstrapových replikátů (-# 1000). Získané bootstrap hodnoty byly zaznamenány na vybraný strom (příkaz -f b).

3.5 Mapování ancestrálních stavů

Mapování ancestrálních stavů znaků bylo prováděno Bayesovskou metodou – program BayesTraits (Pagel et al., 2004) a metodou maximální parsimonie – program Mesquite (Maddison & Maddison, 2010).

3.5.1 Bayesovská metoda

Pro analýzu v programu BayesTraits byly použity výsledky vzniklé Bayesovskou fylogenetickou analýzou alignmentu č. 1.

Nejprve byl vytvořen dataset stromů. Ze stromů vytvořených Bayesovskou analýzou v programu MrBayes (Huelsenbeck & Ronquist, 2001) byla nejprve odstraněna burn-in perioda 25% (5 milionů generací, tzn. prvních 5000 uložených stromů) a ze zbylých stromů byly vybrány stromy z každé 25 000. generace (to znamená každý 2500. uložený strom).

Z každého nezávislého běhu programu tak bylo získáno 601 stromů, které byly spojeny do jediného výsledného datasetu obsahujícího tím pádem 1202 stromů.

Dále byl vytvořen dataset znaků: Prostý textový formát obsahující v prvním sloupci názvy taxonů a v dalších sloupcích stavy jednotlivých znaků.

Analýza vývoje hostitelské specializace:

Pro tuto analýzu byly vytvořeny celkem tři datasety znaků podle rozdělení použitých druhů na specialisty a generalisty (viz kapitola 3.2.1.2 a Příloha 1). Jako hlavní bylo použito rozdělení č. II a podle něj byly určovány ancestrální stavy ve všech nodech. Podle rozdělení č. I a č. III byly určovány ancestrální stavy jen v několika klíčových nodech.

Do všech analýz v programu BayesTraits byly zahrnuty jen taxony náležející do rodu *Sphecodes*, ostatní neparazitické taxony použité jako outgroup a rody *Austrosphecodes*, *Microsphecodes* a *Eupetersia* byly z analýz vyloučeny (příkaz `ExcludeTaxa`).

Nejprve byla v programu BayesTraits provedena analýza metodou maximální věrohodnosti, při které byl pro každý strom stanoven likelihood a rychlosti přeměny jednoho znaku na druhý – ze specialisty na generalistu (qSG) a z generalisty na specialistu (qGS). Podle výsledků této analýzy byly následně nastavovány parametry pro Bayesovskou analýzu.

Stavy znaků na ancestrálních nodech byly rekonstruovány pomocí příkazu `AddMRCA`. Byl použit reversible jump model s nastavením parametrů `hyperprior`, což znamená, že si program parametry získává sám ze zadaného rozložení a intervalu. Bylo použito exponenciální rozložení s intervalem 0 až 100 (respektive 0 až 10 a 0 až 30 u I. a III. rozdělení) (`rjhp exp 0 100`). Dále byl optimalizován `ratedev` parametr tak, aby výsledná acceptance rate (ochota s jakou mcmc řetězec přijímá změny rychlostí přeměny znaků – qSG a qGS) byla v rozmezí 20 až 40%. Tyto hodnoty acceptance rate vycházely při nastavení parametru na hodnotě 40 (respektive 15 a 180 u I. a III. rozdělení). Běh byl nastaven na 5 milionů generací s burn – in periodou 1,5 milionu. Ze zbylých 3,5 miliónu generací mcmc běhu byl počítán průměr posteriorních pravděpodobností stavu daného nodu jako generalisty a jako specialisty.

Pro klíčové nody byla počítána statistická podpora pravděpodobnějšího stavu. Pro tento účel byl stav znaku na daném nodu zafixován pomocí příkazu `fossil` ve stavu, který vyšel v analýze jako pravděpodobnější (specialista nebo generalista) a následně se spustil mcmc běh se stejným nastavením parametrů, které je popsáno výše na 20 milionů generací. Hodnota logaritmu harmonického průměru likelihoodů pro poslední generaci byla zaznamenána a běh programu byl ještě dvakrát zopakován, pro ověření ustálenosti dané hodnoty. Stejný postup

byl zopakován i pro méně pravděpodobnější stav znaku. Z těchto dvou hodnot se pak podle vzorce uvedeného v manuálu k programu spočítal Bayes faktor, který je vyjádřením statistické podpory pro pravděpodobnější stav.

Vzorec pro výpočet Bayes faktoru: $2(\log \text{ harmonického průměru likelihoodů pravděpodobnějšího stavu} - \log \text{ harmonického průměru likelihoodů méně pravděpodobnějšího stavu})$.

Hodnoty Bayes faktoru větší než 2 jsou podle manuálu k programu BayesTraits považovány za pozitivní podporu, větší než 5 za silnou podporu a větší než 10 za velmi silnou podporu.

Analýza ancestrálních hostitelů:

Protože program BayesTraits neumožňuje jednomu taxonu přiřadit více různých stavů znaků, byla analýza počítána pro každého hostitele samostatně. Pro každého hostitele byl vytvořen samostatný dataset, ve kterém byly použity dva stavy znaku – přítomnost daného hostitele nebo nepřítomnost daného hostitele. Analýzy probíhaly stejným způsobem, jako analýzy vývoje hostitelské specializace. Bylo použito exponenciální rozložení s intervalem 0 až 30 (`rjhp exp 0 30`). `Ratedev` parametr byl opět optimalizován tak, aby acceptance rate vycházela mezi 20-40%, což znamenalo nastavení `ratedev=4`. Hostitelé, u kterých vyšel průměr posteriorních pravděpodobností přítomnosti u daného nodu vyšší než 70%, byli uvažováni jako možní hostitelé pro daný nod. Statistická podpora nebyla počítána.

3.5.2 Maximální parsimonie

Pro analýzu metodou maximální parsimonie byl použit konsesuální strom vzniklý Bayesovskou analýzou alignmentu č. 1. Analýza byla prováděna v programu Mesquite (Maddison & Maddison, 2010) pomocí možnosti v menu Analysis → Trace Character History.

Analýza vývoje hostitelské specializace byla prováděna pro všechny tři možnosti rozdělení specialistů a generalistů.

Program Mesquite umožňuje přiřadit jednomu taxonu více různých znaků a tak byla analýza ancestrálních hostitelů počítána pro všechny hostitele najednou.

3.5.3 Testování ireverzibilního vývoje hostitelské specializace

Kromě mapování, zda byli předci současných druhů specialisté nebo generalisté, bylo navíc prováděno testování, zda je model umožňující přechody mezi znaky v obou směrech (z generalistů se mohou stávat specialisté a ze specialistů se mohou stávat generalisté) signifikantně lepší než modely umožňující přechody jen v jednom směru. Pokud by totiž

platila hypotéza specializace jako slepé uličky, měl by být lepší model umožňující přechody jen od generalistů ke specialistům.

Pro tento účel byly v programu BayesTraits provedeny tři analýzy metodou maximální věrohodnosti, kdy byl pro každý strom z datasetu (stejný dataset jako v ostatních analýzách v programu BayesTraits, II. rozdělení specialistů a generalistů) vypočítán likelihood, za předpokladu platnosti daného modelu. V první analýze byly povoleny přechody mezi znaky v obou směrech s tím, že program si sám podle zadaných dat určoval hodnoty rychlostí přeměn z jednoho znaku na druhý (qSG a qGS). V druhé analýze byla rychlost přechodu ze specialisty na generalistu určena jako nulová ($res_{qSG} = 0$) a ve třetí analýze byla jako nulová určena rychlost přechodu z generalisty na specialistu ($res_{qGS} = 0$). Z hodnot likelihoodů všech stromů v souboru byla pro každou analýzu vypočítaná průměrná hodnota. Průměrné hodnoty z analýz umožňujících přechod jen v jednom směru byly porovnány s průměrnou hodnotou z analýzy umožňující přechod v obou směrech pomocí likelihood ratio testu: $2(\ln \text{likelihood volného modelu} - \ln \text{likelihood omezeného modelu})$. Přičemž volným modelem je myšlen model, který umožňuje změnu znaku v obou směrech. Porovnávané modely (model umožňující přechod v obou směrech versus model umožňující přechod jen v jednom směru) mají dva, respektive jeden parametr. Výsledná hodnota likelihood ratio testu tak odpovídá chí-kvadrát rozložení s jedním stupněm volnosti (Pagel, 1994). Pomocí Chí-kvadrát rozložení s jedním stupněm volnosti pak byla odhadnuta pravděpodobnost (P), že je odlišnost obou porovnávaných hodnot pouze náhodná.

3.6 Molekulární datování

Molekulární datování bylo prováděno v programu BEAST v 1.6.1 (Drummond & Rambaut, 2007). Pro analýzu byl použit Alignment č. 1. Nejprve byl pomocí programu BEAUti v 1.6.1 (Drummond & Rambaut, 2007) vytvořen XML vstupní soubor obsahující nastavení všech parametrů. Byly použity 3 kalibrační body:

- Kořen stromu: - 65 milionů let (svrchní křída - maastricht) – nejstarší fosilní nález včely *Cretotrigona prisca* (Engel, 2001, Michener, 2007). Normal rozložení (s nejvyšší pravděpodobností umísťuje kalibrační bod do zadaného data), ± 20 miliónu let.
- Společný předek tribu Halictini: - 42 milionů let (Eocén, Baltický jantar) – nejstarší fosilie náležející do tohoto tribu *Electrolictus antiquus* (Engel, 2001). Log Normal rozložení (s nejvyšší pravděpodobností umísťuje kalibrační bod do doby těsně před zadaným datem).

- Společný předek tribu Caenohalictini: - 23 milionů let (spodní miocén, Dominikánský jantar) – nejstarší fosilie náležející do tohoto tribu *Eickwortapis dominicana* (Michener & Poinar, 1996), Log Normal rozložení (s nejvyšší pravděpodobností umísťuje kalibrační bod do doby těsně před zadaným datem).

Byl použit substituční model GTR + Γ s parametry počítanými pro každý gen zvlášť a pro každý intron zvlášť. Doby divergence byly počítány podle relaxovaného modelu molekulárních hodin (Drummond et al., 2006), výsledný strom byl vytvářen podle Birth – Death modelu (Tree prior: Speciation: Birth-Death Process). Počáteční strom byl náhodně vygenerovaný. Mcmc běh byl nastaven na 10 milionů generací, ukládán byl každý 1000 strom. Analýza byla spuštěna dvakrát nezávisle na sobě a výsledné log soubory byly vyhodnoceny v programu Tracer (Rambaut & Drummond, 2009). V programu LogCombiner v 1.6.1 (Rambaut & Drummond, 2010) byly spojeny výsledné stromy z obou běhů programu a první polovina stromů z každého běhu odstraněna jako burn-in. Výsledný strom byl vytvořen v programu TreeAnnotator v 1.6.1 (Rambaut & Drummond, 2010), který vybral strom s nejvyššími hodnotami posteriorních pravděpodobností.

4. Výsledky

4.1 Fylogeneze a systematika tribu Sphecodini

Na obrázku 3 (str. 42) je výsledek Bayesovské analýzy alignmentu č. 1. Na obrázku 4 (str. 43) je výsledek analýzy metodou maximální věrohodnosti (Maximal Likelihood) alignmentu č. 1. Výsledky Bayesovské analýzy a analýzy metodou maximální věrohodnosti alignmentu č. 2 jsou z důvodu velké velikosti uvedeny v přílohách (Příloha 4 a 5).

4.1.1 Mezidruhová úroveň

Monofilie tribu Sphecodini byla podpořena ve všech analýzách a to s velmi vysokou statistickou podporou.

Naopak rod *Sphecodes* sensu stricto vychází s dobrou podporou jako monofylum pouze v Bayesovské analýze alignmentu č. 2 (posteriorní pravděpodobnost 0.91). V ostatních analýzách buď sice tvoří monofylum (obě analýzy alignmentu č. 1), ale podpora je nízká (bootstrap < 50, posteriorní pravděpodobnost 0.65), nebo monofylum vůbec netvoří (analýza metodou maximální věrohodnosti alignmentu č.2).

V žádné z analýz nevychází taxon *Austrosphecodes* jako monofylum, jelikož do něj vždy spadají i zástupci z rodu *Microsphecodes*. Rod *Eupetersia* vychází v obou analýzách alignmentu č. 1 jako sesterský k rodu *Sphecodes* a skupina zahrnující rody *Austrosphecodes* a *Microsphecodes* je pak bazální linií celého tribu Sphecodini. V analýzách alignmentu č. 2 vychází rod *Eupetersia* sestersky k taxonům *Austrosphecodes* a *Microsphecodes*. Statistická podpora je ovšem velmi nízká (< 50 , respektive < 0.5). Skupina zahrnující taxony *Austrosphecodes*, *Microsphecodes* a *Eupetersia* pak tvoří v Bayesovské analýze alignmentu č. 2 bazální skupinu celého tribu Sphecodini.

V rámci rodu *Sphecodes* jsou výsledky všech analýz poměrně konzistentní a mají většinou vysokou statistickou podporu. Problémem je postavení druhů *Sphecodes majalis*, *S. spinulosus* a *S. ranunculi*. Ve všech analýzách tvoří tyto druhy monofyletickou skupinu, ale její postavení v rámci celé fylogeneze se v jednotlivých analýzách liší a je vždy jen velmi slabě podpořeno. Důsledkem tohoto problému je i slabá podpora bazálních nodů náležejících do rodu *Sphecodes*. Další nejasností ve fylogenezi rodu *Sphecodes* jsou vztahy uvnitř skupiny zahrnující druhy *Sphecodes pinguiusculus*, *S. clematidis*, *S. zangheri*, *S. crassus*, *S. croaticus*, *S. pseudofasciatus*, *S. marginatus*, *S. miniatus*, *S. geoffrellus*, *S. ferruginatus* a *S. hyalinatus*. Monofylie této skupiny je ve všech analýzách celkem dobře podpořena (hodnoty posteriorních pravděpodobností 1, hodnoty bootstrapů 85 respektive 88). Jasně je také postavení celé skupiny v rámci fylogeneze – s velmi vysokou podporou (posteriorní pravděpodobnosti 1, bootstrapy 100) tvoří její sesterskou skupinu druhy *Sphecodes ephippius*, *S. pellucidus*, *S. rubicundus* a *S. ruficrus*. Nicméně vnitřní vztahy jsou z velké části nevyjasněné. Problém tvoří zejména druhy *Sphecodes pinguiusculus*, *S. geoffrellus* a *S. clematidis*, jejichž pozice je v rámci této skupiny značně nekonzistentní.

Zajímavé je postavení druhu *Sphecodes niger*, který je rozšířený v Evropě a Turecku (Westrich, 1989) a v analýzách alignmentu č. 1 vychází jako sesterský ke skupině zahrnující severoamerické jedince (*Sphecodes sp. 17*, *S. autumnalis*). V analýzách alignmentu č. 2, kde je zahrnuto více neurčených jedinců, pak vychází sestersky k blíže neurčenému jedinci z Íránu (*Sphecodes sp. 24*) a společně s ním tvoří sesterskou skupinu k severoamerickým jedincům (*Sphecodes sp. 17*, *Sphecodes sp. 18*, *S. autumnalis*).

4.1.2 Vnitrodruhová úroveň

Všichni jedinci řazení do druhu *Sphecodes ephippius* jsou si podle fylogenetických analýz alignmentu č. 2 geneticky velmi podobní a to i přes to, že jsou v analýzách zařazeni jedinci z různých zemí (Česká republika, Maďarsko, Itálie, Bulharsko, Írán), druh je morfologicky

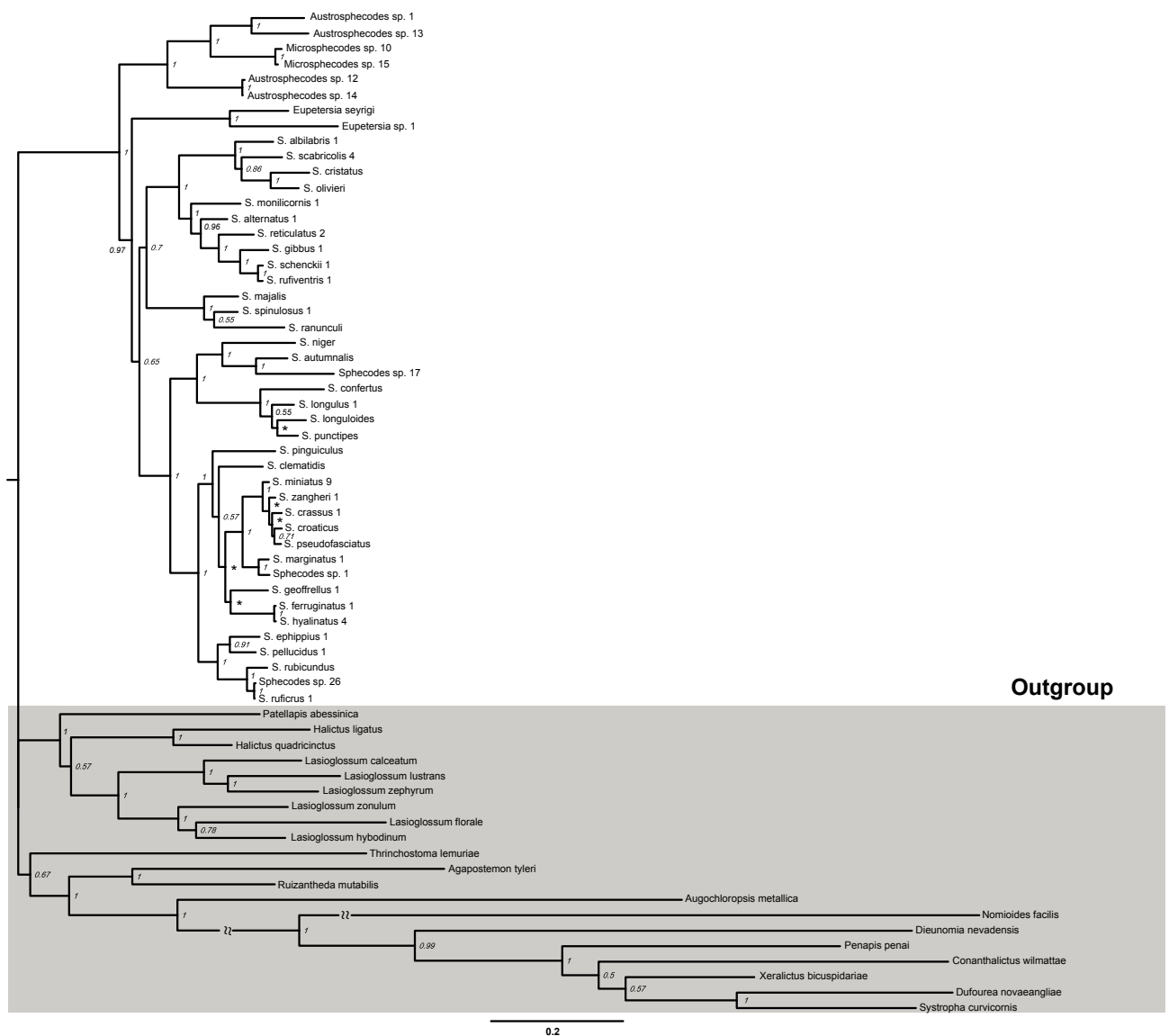
různorodý a u samic byla objevena individuální specializace (Bogusch et al., 2006). U druhu *Sphecodes monilicornis*, který je rovněž morfologicky různorodý a samice jsou zde individuálně specializované (Bogusch et al., 2006), je nápadná odlišnost tureckého jedince náležejícího do poddruhu *S. monilicornis cephalotes* (Warncke, 1992). Ostatní jedinci (Česká republika, Bulharsko, Itálie) náležejí do poddruhu *S. monilicornis monilicornis* a jsou geneticky velmi homogenní.

Morfologicky nebo ekologicky variabilní druhy *S. crassus*, *S. pelucidus*, *S. gibbus* a *S. rufiventris*, jsou podle analýz geneticky homogenní.

Situace je komplikovaná u druhů *Sphecodes marginatus* a *S. miniatus*. Podle analýz alignmentu č. 2 tvoří jedinci náležející k těmto druhům dvě sesterské skupiny. Do první skupiny spadají jedinci obou druhů, kteří pocházejí z Evropy (Česká republika, Slovensko, Švýcarsko). Druhou skupinu tvoří dva jedinci druhu *Sphecodes marginatus* (*S. marginatus* 5, 6) a jeden blíže neurčený jedinec (*Sphecodes sp.1*), přičemž všichni tito tři jedinci pocházejí z Tuniska.

U druhu *Sphecodes albilabris* je nápadně geneticky odlišný jedinec ze Španělska, který náleží do poddruhu *Sphecodes albilabris rubripes*.

Monofyleticky nevychází druh *Sphecodes feruginatus*, jelikož zástupci druhu *S. hyalinatus* vycházejí jako vnitřní skupina tohoto druhu.



Obrázek 3: Výsledek fylogenetické analýzy alignmentu č. 1 získaný pomocí Bayesovské metody
 Fylogenetický strom je vytvořen na základě konkatenátu pěti genů (COI, EF1, WG, 28S, LWR). Hodnoty posteriorních pravděpodobností menší než 0.5 jsou nahrazeny hvězdičkou (*). Některé větve v outgroupu byly zkráceny.



Obrázek 4: Výsledek fylogenetické analýzy alignmentu č. 1 získaný pomocí metody maximální věrohodnosti (Maximal Likelihood)

Fylogenetický strom je vytvořen na základě konkatenátu pěti genů (COI, EF1, WG, 28S, LWR). Hodnoty bootstrapů menší než 50 jsou nahrazeny hvězdičkou (*). Některé větve v outgroupu byly zkráceny.

4.2 Mapování ancestrálních stavů

Pro mapování ancestrálních stavů byly použity výsledky z Bayesovské analýzy alignmentu č. 1, přičemž byla použita pouze část fylogenetického stromu zahrnující zástupce rodu *Sphecodes*.

4.2.1 Mapování vývoje hostitelské specializace

Na obrázcích 5 a 6 (str. 46, 47) jsou znázorněny výsledky mapování ancestrálních stavů hostitelské specializace při použití II. (hlavního) rozdělení specialistů a generalistů. Na obrázku č. 5 jsou v jednotlivých nodech fylogenetického stromu vyobrazeny výsledné pravděpodobnosti daných stavů při použití Bayesovské metody. Na obrázku č. 6 jsou znázorněny možné stavy v jednotlivých nodech získané metodou maximální parsimonie.

Výsledky mapování ancestrálních stavů hostitelské specializace při použití I. rozdělení specialistů a generalistů (volnější definice specialisty) jsou zobrazeny na obrázcích 7 a 8 (str. 48, 49), přičemž na obrázku č. 7 je znázorněn výsledek Bayesovské metody a na obrázku č. 8 výsledek získaný metodou maximální parsimonie.

Na obrázcích 9 a 10 (str. 50, 51) jsou pak výsledky při použití III. rozdělení specialistů a generalistů (nejstriktnější definice specialisty). Obrázek č. 8 znázorňuje výsledek Bayesovské metody a na obrázku č. 9 je výsledek získaný metodou maximální parsimonie.

Pomocí Bayesovské metody byly při použití I. a III. rozdělení specialistů a generalistů mapovány ancestrální stavy jen ve vybraných klíčových nodech.

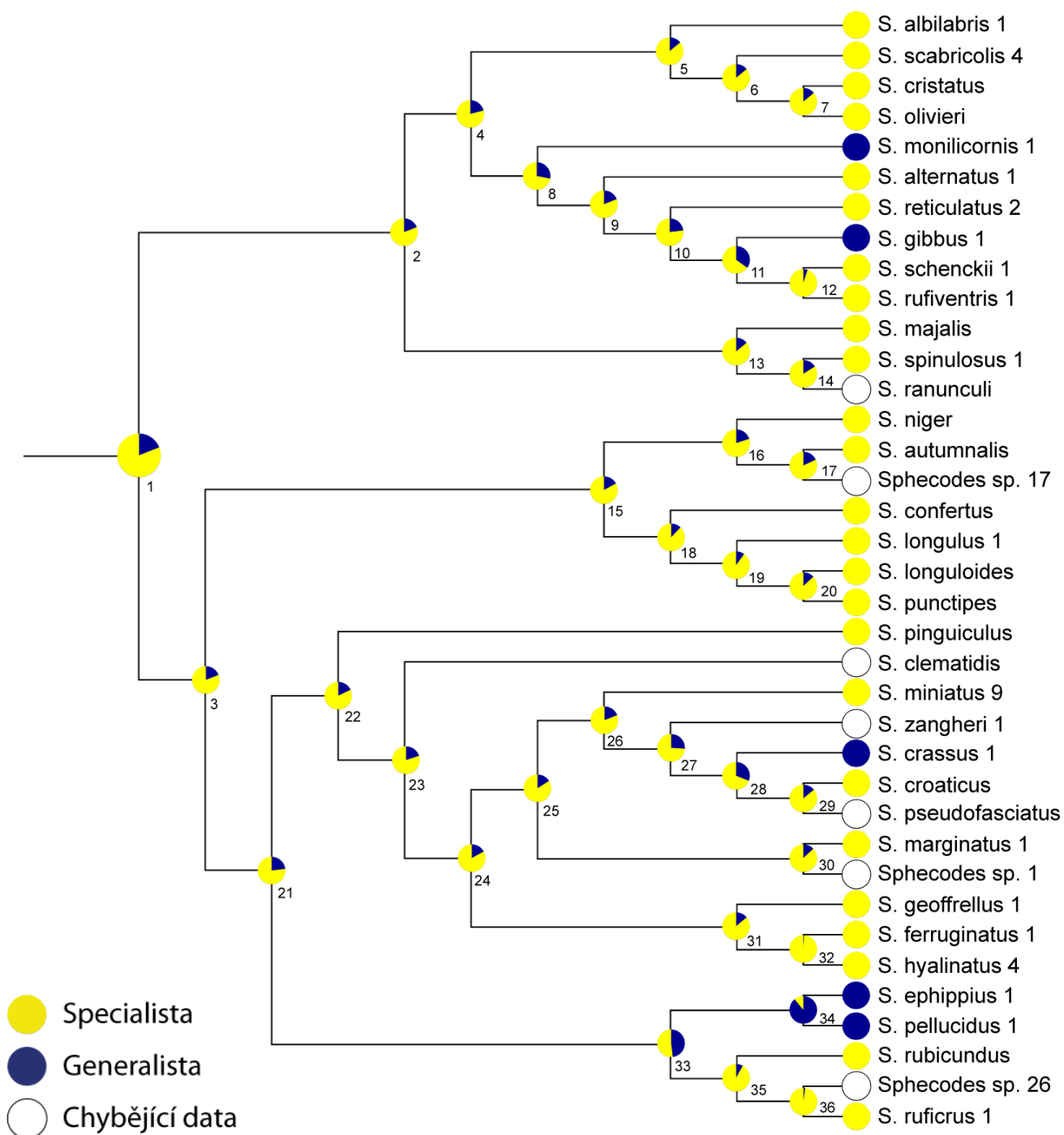
Všechny hodnoty posteriorních pravděpodobností daných stavů v jednotlivých nodech získané Bayesovskou metodou jsou shrnuté v tabulce č. 3 (str. 52). V této tabulce je rovněž u vybraných nodů uvedena statistická podpora pravděpodobnějšího stavu.

Ve všech analýzách vychází nejbližší společný předek rodu *Sphecodes* (Node 1) jako specialista a tento stav je u všech Bayesovských analýz i pozitivně podpořen (4.4 respektive 3.2 a 4.5).

Ancestrální stavy vycházejí u naprosté většiny nodů napříč všemi analýzami jako specialista. Jako generalista vychází ancestrální stav s nízkou posteriorní pravděpodobností pouze v několika nodech při Bayesovské analýze zahrnující III. rozdělení specialistů a generalistů (Node 5, 10, 33). Ovšem statistická podpora tohoto stavu je vždy nízká (< 2). Jako generalista vychází ještě společný předek druhů *Sphecodes ephippius* a *S. pellucidus* (Node 34) při použití II. nebo III. rozdělení specialistů a generalistů (oba druhy jsou

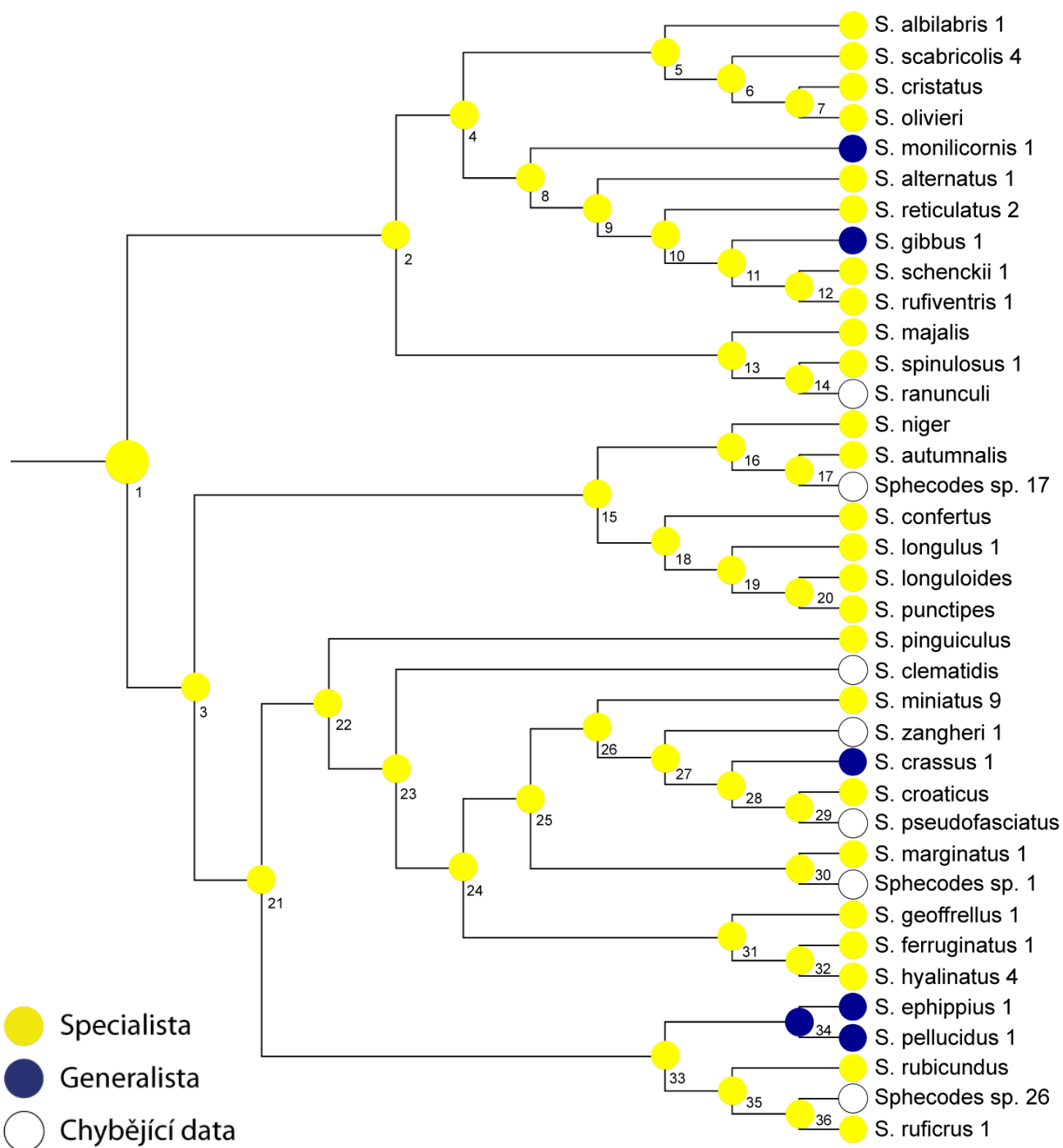
v považovány za generalisty). Při použití I. rozdělení (*S. pellucidus* je považovaný za specialistu) vychází tento společný předek jako specialista.

Pouze v jednom případě se vyskytl přechod z generalisty na specialistu a to z již zmíněného nodu 33 při Bayesovské analýze III. rozdělení specialistů a generalistů. V tomto případě vychází ancestrální stav nodu 33 jako generalista, ale druhy *Sphecodes rubicundus* a *S. ruficrus* vzniklé z tohoto předka jsou specialisté. Nicméně posteriorní pravděpodobnost generalisty není u tohoto nodu vysoká (0.55) a statistická podpora je nízká (< 2).

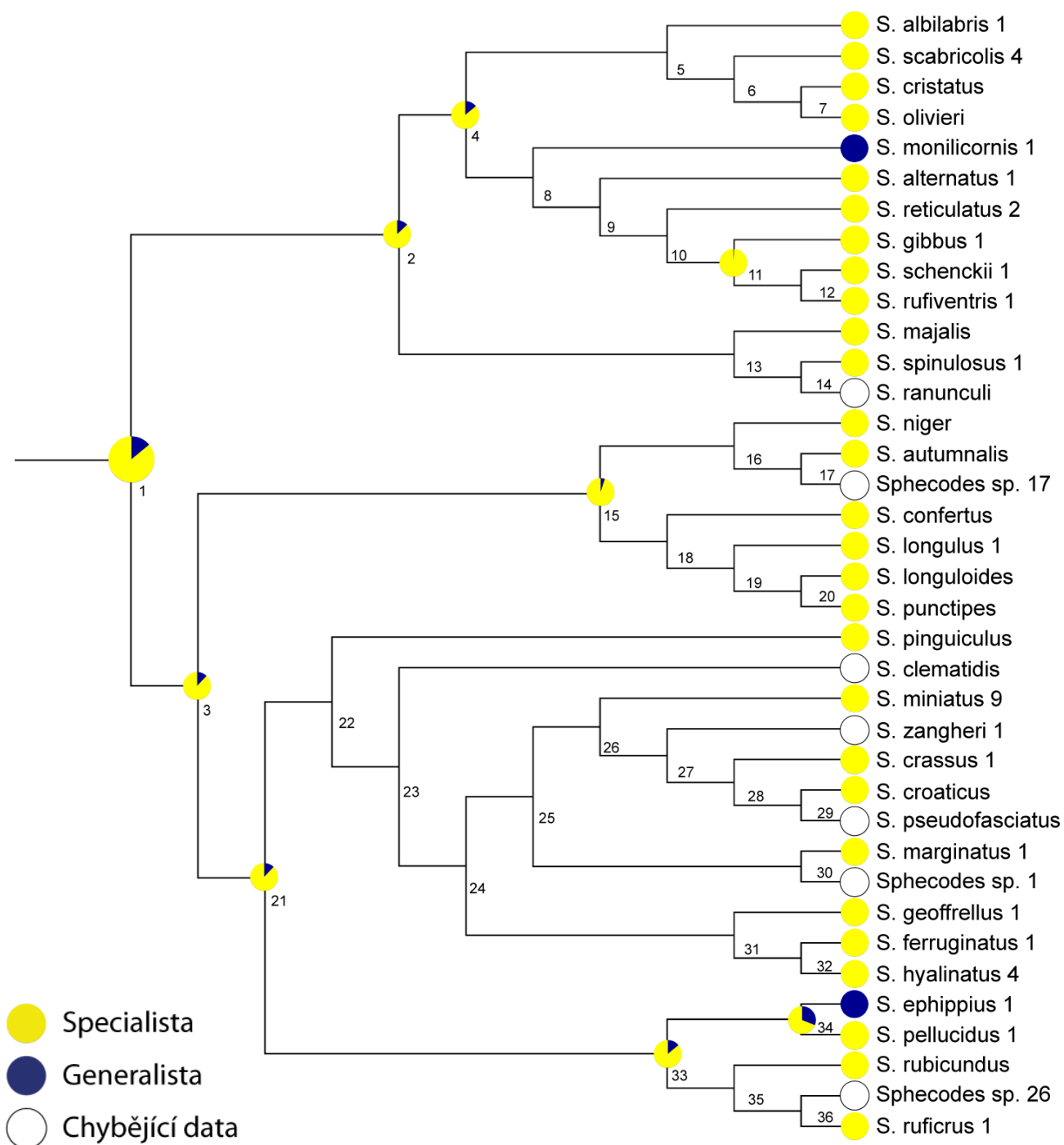


Obrázek 5: Výsledek Bayesovského mapování ancestrálních stavů hostitelské specializace při použití II. (hlavního) rozdělení specialistů a generalistů

V jednotlivých nodech je pomocí koláčových grafů znázorněna pravděpodobnost s jakou byl daný předek specialista a s jakou generalista. Přesné hodnoty posteriorních pravděpodobností a statistické podpory pravděpodobnějších stavů lze dohledat podle čísel nodů v tabulce č. 3.

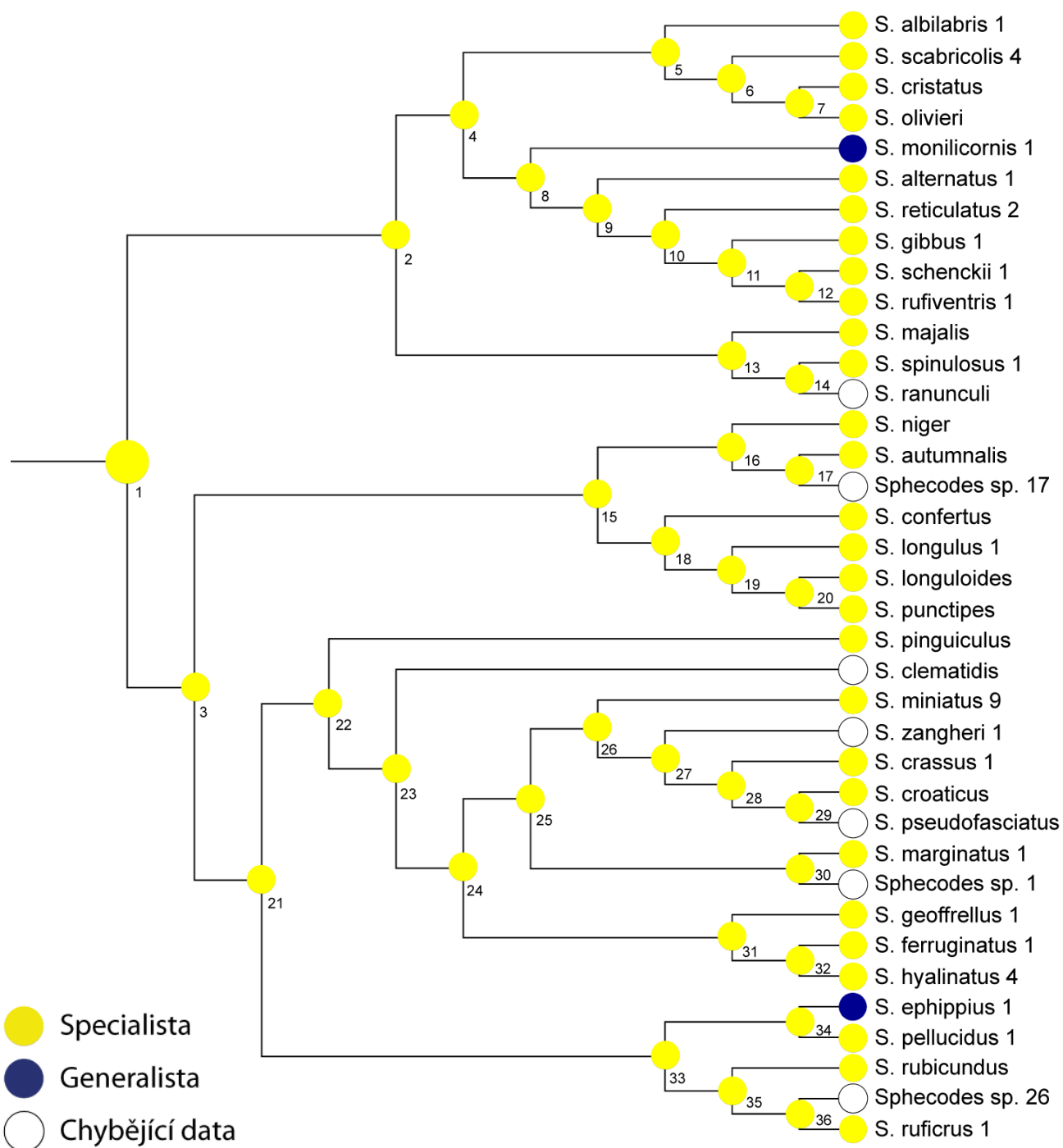


Obrázek 6: Výsledek mapování ancestrálních stavů hostitelské specializace metodou maximální parsimonie při použití II. (hlavního) rozdělení specialistů a generalistů
V jednotlivých nodech jsou znázorněny možné ancestrální stavy hostitelské specializace.

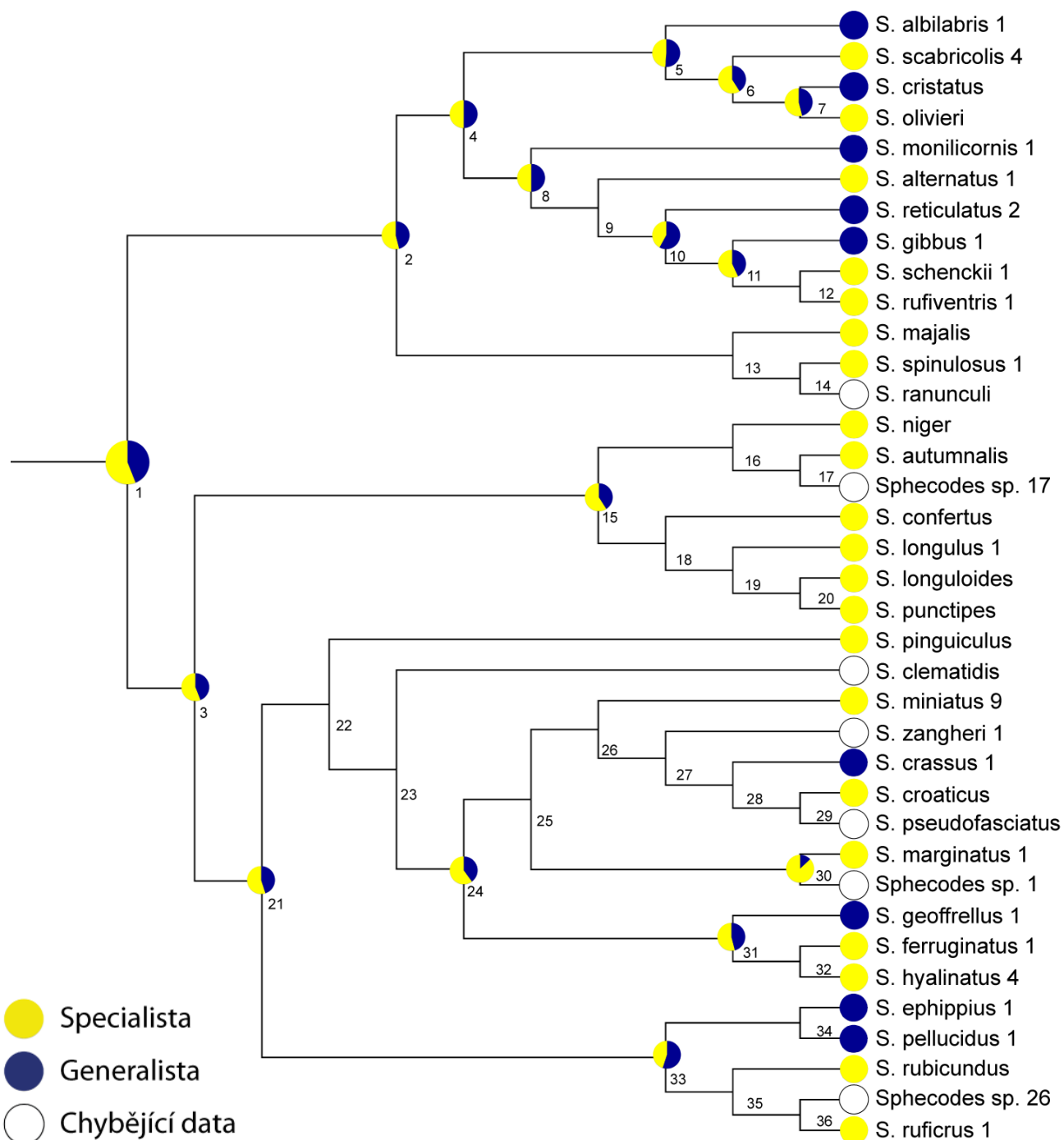


Obrázek 7: Výsledek Bayesovského mapování ancestrálních stavů hostitelské specializace ve vybraných nodech při použití I. rozdělení specialistů a generalistů (volnější definice specialisty)

V jednotlivých nodech je pomocí koláčových grafů znázorněna pravděpodobnost s jakou byl daný předek specialista a s jakou generalista. Přesné hodnoty posteriorních pravděpodobností a statistické podpory pravděpodobnějších stavů lze dohledat podle čísel nodů v tabulce č. 3.

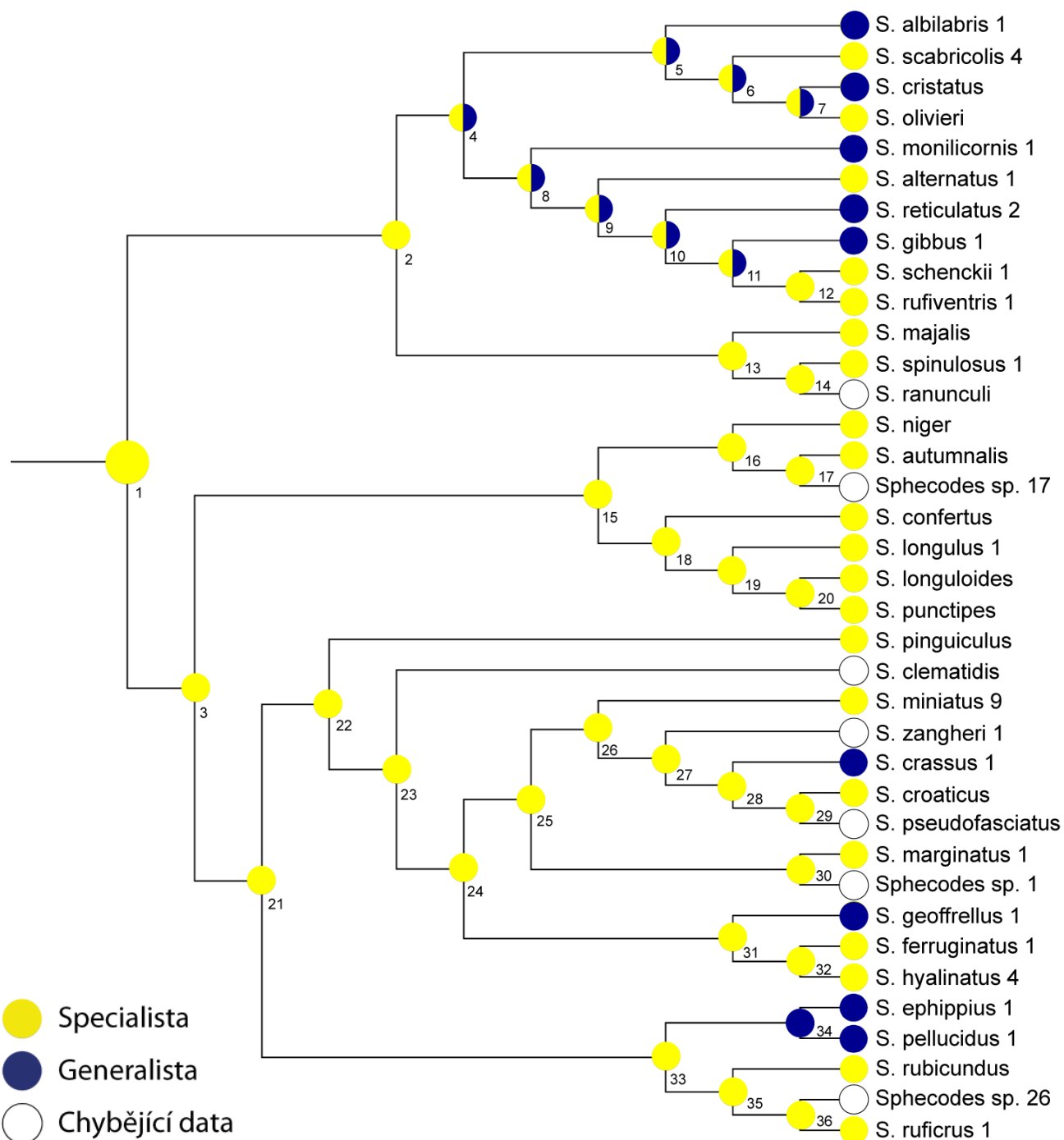


Obrázek 8: Výsledek mapování ancestrálních stavů hostitelské specializace metodou maximální parsimonie při použití I. rozdělení specialistů a generalistů (volnější definice specialisty)
 V jednotlivých nodech jsou znázorněny možné ancestrální stavy hostitelské specializace.



Obrázek 9: Výsledek Bayesovského mapování ancestrálních stavů hostitelské specializace ve vybraných nodech při použití III. rozdělení specialistů a generalistů (nejstriktnější definice specialisty)

V jednotlivých nodech je pomocí koláčových grafů znázorněna pravděpodobnost s jakou byl daný předek specialista a s jakou generalista. Přesné hodnoty posteriorních pravděpodobností a statistické podpory pravděpodobnějších stavů lze dohledat podle čísel nodů v tabulce č. 3.



Obrázek 10: Výsledek mapování ancestrálních stavů hostitelské specializace metodou maximální parsimonie při použití III. rozdělení specialistů a generalistů (nejstriktnější definice specialisty)
V jednotlivých nodech jsou znázorněny možné ancestrální stavy hostitelské specializace.

Tabulka 3: Hodnoty posteriorních pravděpodobností ancestrálních stavů získané Bayesovskou metodou a statistické podpory pravděpodobnějších stavů

P (S): pravděpodobnost, že byl daný předek specialista. P(G): pravděpodobnost, že byl daný předek generalista. Statistická podpora byla počítána vždy pro stav, který vyšel jako pravděpodobnější. Hodnoty statistické podpory menší než 2 jsou nahrazeny hvězdičkou (*). Hodnoty statistické podpory vyšší než 2 jsou podle manuálu k programu BayesTraits považovány za pozitivní podporu, vyšší než 5 za silnou podporu a vyšší než 10 za velmi silnou podporu.

	Rozdělení č. I			Rozdělení č. II			Rozdělení č. III		
	P (G)	P (S)	Statistická podpora	P (G)	P (S)	Statistická podpora	P (G)	P (S)	Statistická podpora
Node1	0.14	0.86	4.4	0.19	0.81	3.2	0.44	0.56	4.5
Node2	0.13	0.87	3.8	0.19	0.81	3.6	0.46	0.54	*
Node3	0.12	0.88	3.9	0.19	0.81	4.2	0.44	0.56	*
Node4	0.14	0.86	4.3	0.21	0.79	3.9	0.50	0.50	-
Node5				0.14	0.86		0.51	0.49	*
Node6				0.14	0.86		0.41	0.59	*
Node7				0.14	0.86		0.46	0.54	*
Node8				0.15	0.85		0.50	0.50	-
Node9				0.19	0.81				
Node10				0.23	0.77		0.58	0.42	*
Node11	0.01	0.99	10.2	0.35	0.65	3.9	0.43	0.57	*
Node12				0.05	0.95				
Node13				0.14	0.86				
Node14				0.16	0.84				
Node15	0.05	0.95	5.9	0.17	0.83	3.9	0.41	0.59	3.8
Node16				0.20	0.80				
Node17				0.18	0.82				
Node18				0.12	0.88				
Node19				0.10	0.90				
Node20				0.13	0.87				
Node21	0.12	0.88	3.4	0.23	0.77	5.0	0.45	0.55	*
Node22				0.18	0.82				
Node23				0.20	0.80				
Node24				0.17	0.83		0.40	0.60	*
Node25				0.16	0.84				
Node26				0.19	0.81				
Node27				0.26	0.74				
Node28				0.31	0.69				
Node29				0.14	0.86				
Node30				0.13	0.87				
Node31				0.14	0.86		0.46	0.54	*
Node32				0.01	0.99				
Node33	0.14	0.86	*	0.48	0.52	3.0	0.55	0.45	*
Node34	0.31	0.69	4.1	0.89	0.11				
Node35				0.08	0.92				
Node36				0.02	0.98				

4.2.2 Mapování ancestrálních hostitelů

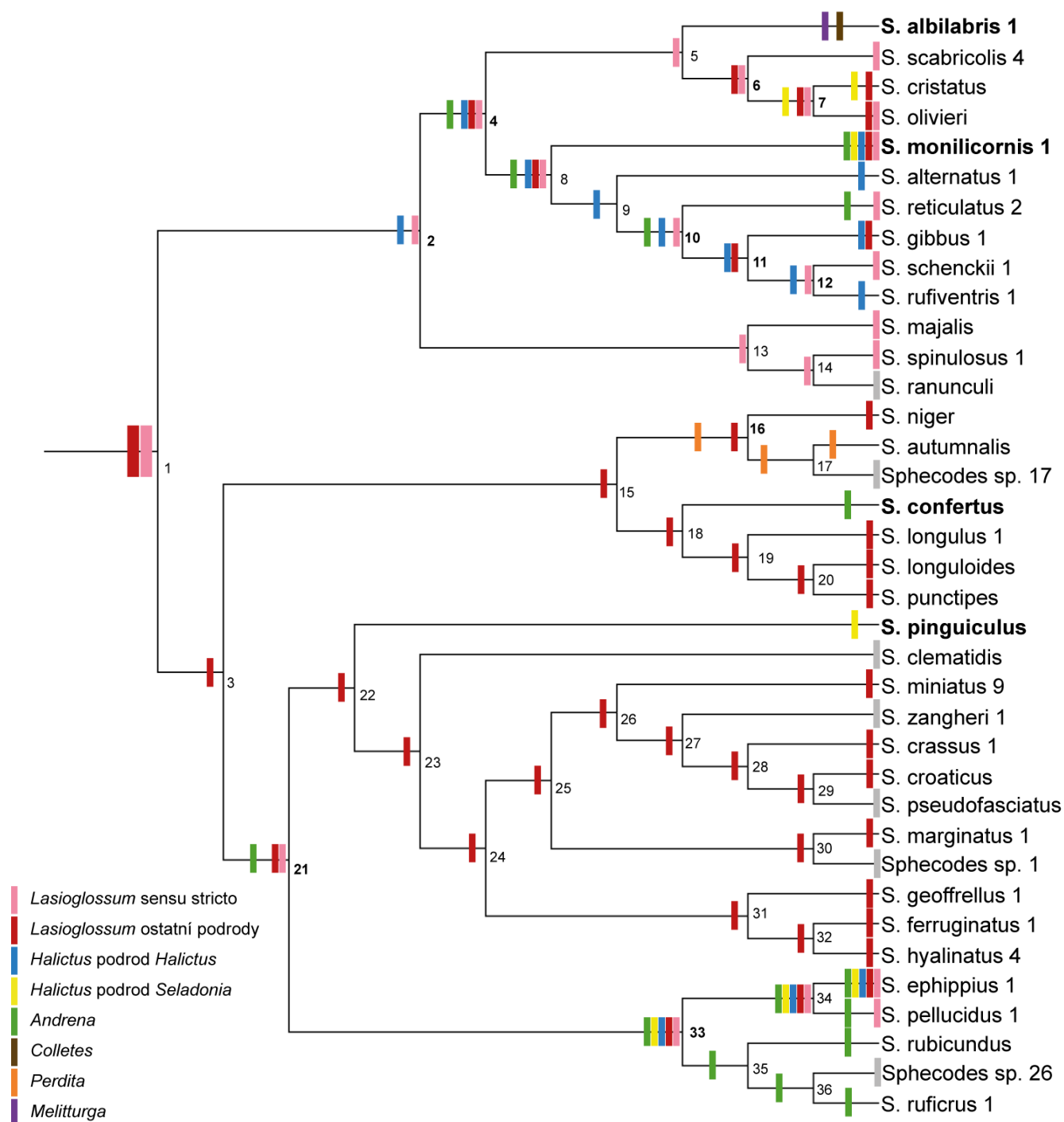
Mapování ancestrálních hostitelů Bayesovskou metodou bylo prováděno pro každého hostitele samostatně. Souhrnný výsledek ze všech analýz je uveden na obrázku č. 11 a v tabulce č. 4.

Výsledek získaný pomocí metody maximální parsimonie je znázorněn na obrázku č. 12.

V obou typech analýz vychází hostitel nejbližšího společného předka rodu *Sphecodes* jako rod *Lasioglossum*. Oba druhy analýz se ale liší v ancestrálních hostitelích u některých dalších nodů. Pomocí Bayesovské metody obecně na nodech vychází více možných ancestrálních hostitelů než metodou maximální parsimonie. Také počet možných přeskoků mezi hostiteli v průběhu evoluce je vyšší u Bayesovské analýzy (13) než u analýzy metodou maximální parsimonie (11) a přeskoky jsou ve stromě u obou metod lokalizovány různě. Největší rozdíl je u nodů č. 4, 6 a 12. Podle výsledků získaných Bayesovskou metodou se v těchto nodech mohl odehrát přeskok na jiného hostitele, ale podle výsledků maximální parsimonie nikoliv. V některých případech je z výsledků obou metod zřejmé, že se určitý přeskok na jiného hostitele odehrál, ale výsledky se neshodují v lokalizaci tohoto přeskoku. Vzájemně si tímto způsobem odpovídají tyto přeskoky (před pomlčkou je vždy uvedena lokalizace podle Bayesovské analýzy a za pomlčkou podle analýzy metodou maximální parsimonie):

- Node č. 2 – Node č. 8
- Node č. 7 – *Sphecodes cristatus*
- Node č. 10 – *S. reticulatus*
- Node č. 11 – *S. gibbus*
- Node č. 16 – Node č. 17
- Node č. 21 – Node č. 33
- Node č. 33 – *S. ephippius*

Čtyři přeskoky jsou shodné v obou typech analýz (*S. albilabris*, *S. confertus*, *S. pinguiculus*, *S. monilicornis*). U nodů č. 33 se sice podle obou typů analýz odehrál přeskok na jiného hostitele, nicméně tyto přeskoky si vzájemně neodpovídají.



Obrázek 11: Souhrnný výsledek mapování ancestrálních hostitelů pomocí Bayesovské metody

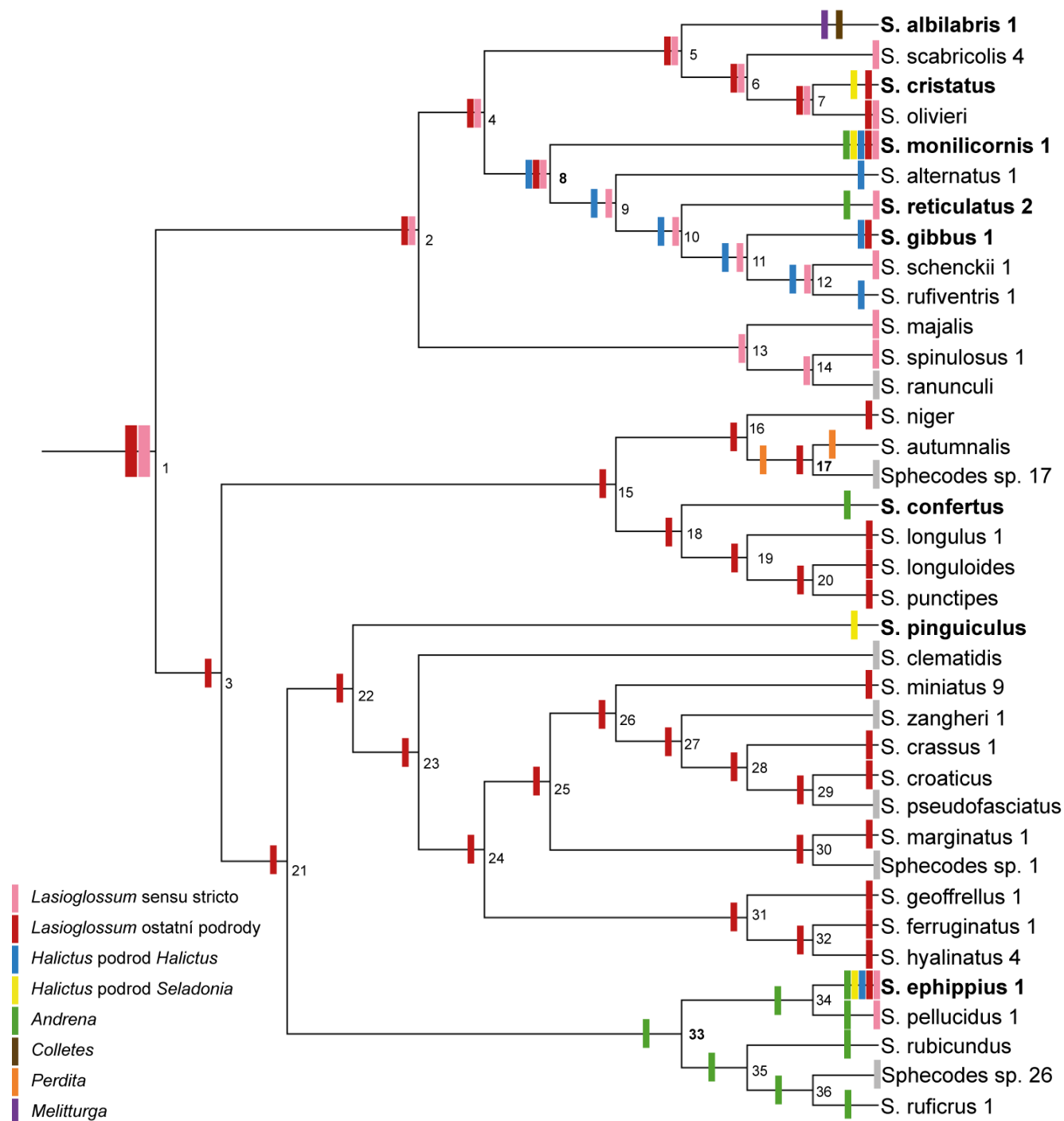
V jednotlivých nodech jsou vyznačeni hostitelé, u nichž vyšla posteriorní pravděpodobnost přítomnosti v daném nodu vyšší než 0.7. **Tučně** jsou vyznačena čísla nodů a druhy, u kterých došlo k přeskoku na jiného hostitele. Všechny hodnoty posteriorních pravděpodobností pro jednotlivé hostitele lze podle čísel nodů dohledat v tabulce č. 4.

Tabulka č. 4: Hodnoty posteriorních pravděpodobností pro ancestrální hostitele

V tabulce jsou vždy uvedeny hodnoty posteriorních pravděpodobností pro přítomnost jednotlivých hostitelů v daném nodu. **Tučně** jsou označeny hodnoty nad 0.7. Šedě jsou označeny hodnoty nad 0.5.

LS: *Lasioglossum* sensu stricto. LO: *Lasioglossum* – statní podrody tohoto rodu. H: *Halictus* podrod *Halictus*. S: *Halictus* podrod *Seladonia*. A: *Andrena*. C: *Colletes*. P: *Perdita*. M: *Melitturga*.

	P (LS)	P (LO)	P (H)	P (S)	P (A)	P (C)	P (P)	P (M)
Node1	0.93	0.85	0.64	0.34	0.63	0.19	0.20	0.19
Node2	0.95	0.63	0.74	0.38	0.56	0.25	0.22	0.25
Node3	0.46	0.94	0.25	0.36	0.66	0.19	0.32	0.19
Node4	0.94	0.73	0.93	0.50	0.70	0.26	0.14	0.26
Node5	0.87	0.64	0.11	0.29	0.11	0.66	0.11	0.66
Node6	0.95	0.80	0.15	0.45	0.15	0.23	0.15	0.23
Node7	0.84	0.99	0.13	0.73	0.13	0.13	0.13	0.13
Node8	0.91	0.70	0.99	0.58	0.82	0.10	0.10	0.10
Node9	0.67	0.24	0.97	0.11	0.45	0.10	0.10	0.10
Node10	0.90	0.46	0.81	0.12	0.74	0.12	0.12	0.12
Node11	0.54	0.72	0.97	0.07	0.07	0.07	0.07	0.07
Node12	0.82	0.01	0.83	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
Node13	0.99	0.12	0.12	0.12	0.12	0.12	0.12	0.12
Node14	0.96	0.17	0.17	0.17	0.17	0.17	0.17	0.17
Node15	0.27	0.87	0.27	0.27	0.32	0.27	0.57	0.27
Node16	0.28	0.71	0.28	0.28	0.28	0.28	0.74	0.28
Node17	0.26	0.26	0.26	0.26	0.26	0.26	0.91	0.26
Node18	0.07	0.97	0.07	0.07	0.28	0.07	0.07	0.07
Node19	0.04	1.00	0.04	0.04	0.07	0.04	0.04	0.04
Node20	0.06	0.99	0.06	0.06	0.12	0.06	0.06	0.06
Node21	0.63	0.92	0.25	0.46	0.82	0.08	0.08	0.08
Node22	0.11	0.96	0.11	0.42	0.11	0.11	0.11	0.11
Node23	0.10	0.98	0.10	0.21	0.10	0.10	0.10	0.10
Node24	0.07	1.00	0.07	0.08	0.07	0.07	0.07	0.07
Node25	0.08	0.99	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08
Node26	0.02	1.00	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02
Node27	0.03	1.00	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03
Node28	0.02	1.00	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02
Node29	0.07	0.98	0.07	0.07	0.07	0.07	0.07	0.07
Node30	0.12	0.97	0.12	0.12	0.12	0.12	0.12	0.12
Node31	0.12	0.99	0.12	0.12	0.12	0.12	0.12	0.12
Node32	0.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Node33	0.91	0.52	0.52	0.52	1.00	0.08	0.08	0.08
Node34	0.99	0.75	0.75	0.75	0.99	0.09	0.09	0.09
Node35	0.02	0.02	0.02	0.02	1.00	0.02	0.02	0.02
Node36	0.01	0.01	0.01	0.01	1.00	0.01	0.01	0.01



Obrazek 12: Výsledek mapování ancestrálních hostitelů metodou maximální parsimonie

V jednotlivých nodech jsou uvedené druhy, které mohly být podle metody maximální parsimonie možnými hostiteli daného předka. **Tučně** jsou vyznačena čísla nodů a druhy, u kterých došlo k přeskoku na jiného hostitele.

4.3 Testování ireverzibilního vývoje hostitelské specializace

Likelihood obou modelů umožňujících změnu pouze v jednom směru vyšel signifikantně nižší (hodnota P 0.0169 pro model zakazující přechod z generalisty na specialistu respektive 0.0005 pro model zakazující přechod ze specialisty na generalistu), než likelihood modelu umožňující obousměrný přechod mezi generalisty a specialisty.

Tabulka č. 5: Výsledky likelihood ratio testu

G ↔ S: model umožňující změnu znaku v obou směrech. G → S: model umožňující pouze přechod z generalisty na specialistu. S → G: model umožňující přechod pouze ze specialisty na generalistu. LR: likelihood ratio test. P: pravděpodobnost, že je odlišnost obou hodnot pouze náhodná.

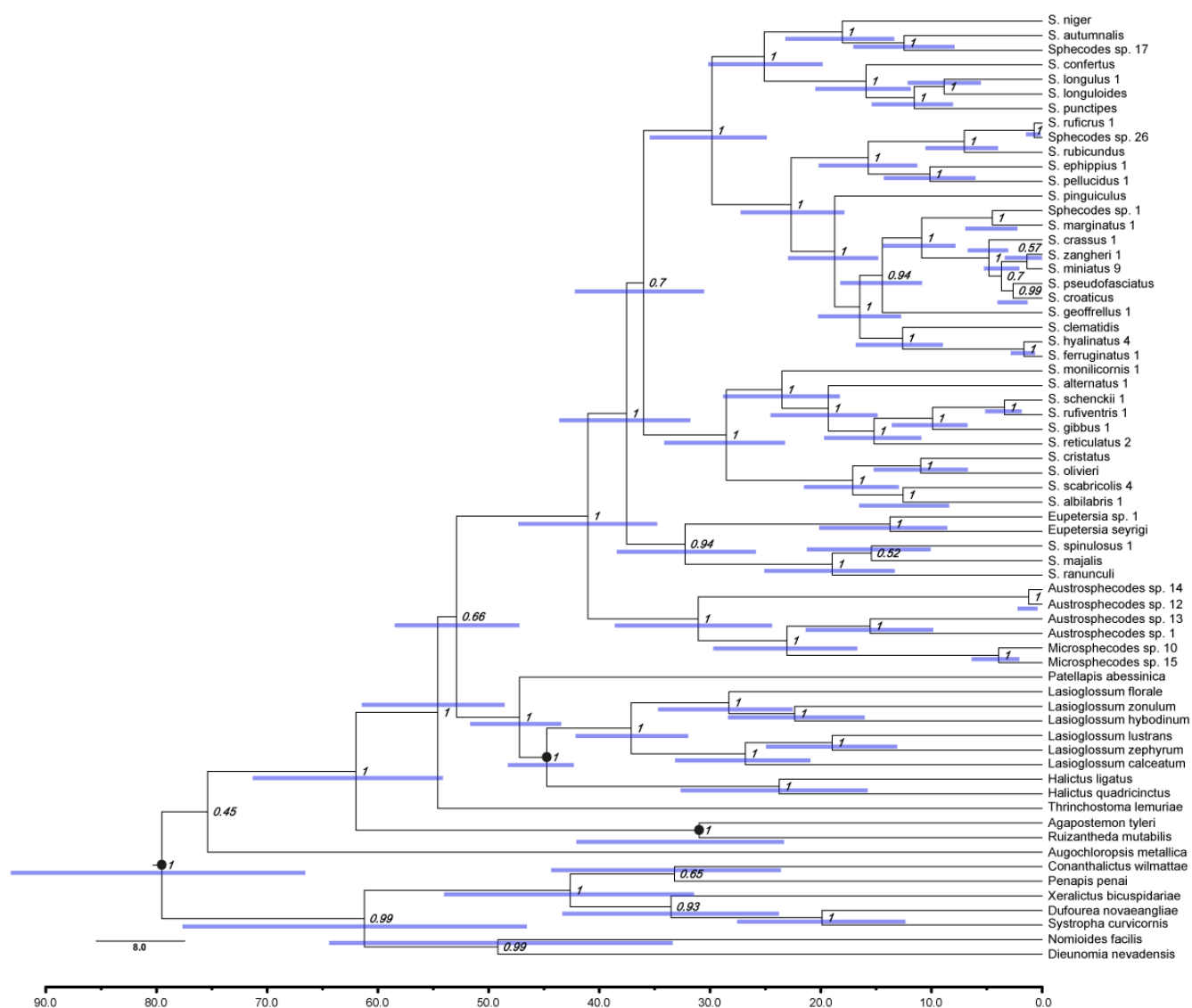
	G ↔ S	G → S	S → G
Průměrný ln likelihood	-12.72	-18.70	-15.57
LR (srovnání s G ↔ S)		11.97	5.70
P		0.0005	0.0169

4.4 Molekulární datování

Pro molekulární datování byl použit alignment č. 1. Výsledný fylogenetický strom je znázorněn na obrázku č. 13.

Jediný zásadní rozdíl v topologii tohoto fylogenetického stromu od topologií stromů získaných Bayesovskou metodou a metodou maximální věrohodnosti je postavení rodu *Eupetersia* uvnitř rodu *Sphecodes*, kde tvoří sesterskou skupinu k druhům *Sphecodes spinulosus*, *S. majalis* a *S. ranunculi*. I když je tato pozice podpořena (posteriorní pravděpodobnost 0.94), z ostatních fylogenetických analýz je zřejmé, že postavení skupiny zahrnující druhy *S. spinulosus*, *S. majalis* a *S. ranunculi* je nejednoznačné, čímž může být v tomto případě ovlivněna i pozice rodu *Eupetersia*.

Nejbližší společný předek rodu *Sphecodes* (včetně rodu *Eupetersia*) je podle této analýzy starý 38 ± 6 milionů let. Nejbližší společný předek rodu *Sphecodes* sensu stricto (bez rodu *Eupetersia* a tím pádem v tomto případě i bez druhů *S. spinulosus*, *S. majalis* a *S. ranunculi*) je starý 36 ± 6 milionů let. Nejbližší společný předek rodu *Lasioglossum* vychází 37 ± 5 milionů let starý. Nejbližší společný předek linie *Lasioglossum* sensu stricto je podle analýzy starý 28 ± 6 milionů let a stáří nejbližšího společného předka linie „*Lasioglossum* – ostatní podrody“ je 27 ± 6 milionů let. Oddělení rodů *Halictus* a *Lasioglossum* se odehrálo před 45 ± 3 miliony lety.



Obrázek 13: Výsledný fylogenetický strom získaný metodou molekulárního datování
Časová osa je znázorněna v milionech let. Modře je znázorněno rozpětí do kterého daný nod spadá s 95% pravděpodobností. Černými tečkami jsou znázorněny kalibrační body.

5. Diskuse

5.1 Fylogeneze a systém tribu Sphecodini

Z výsledků fylogenetických analýz je zřejmé, že tribus Sphecodini tvoří uvnitř čeledi Halictidae monofyletickou skupinu.

Taxon *Austrosphecodes*, který byl doposud většinou považovaný za podrod rodu *Sphecodes* (Michener, 2007), by si podle uvedených analýz zasloužil status samostatného rodu jelikož kromě analýzy 2. alignmentu metodou maximální věrohodnosti vždy vychází mimo ostatní zástupce rodu *Sphecodes* a v obou analýzách alignmentu č. 1 tvoří dokonce bazální linii celého tribu Sphecodini.

Taxon *Microsphecodes*, který byl naopak doposud uváděn jako samostatný rod (Michener, 1978; 2007) by měl získat spíše status podrodu náležejícího do rodu *Austrosphecodes*. Ve všech analýzách totiž vychází jako jeho vnitřní skupina. Pokud by měl i přesto *Microsphecodes* zůstat samostatným rodem, musely by se vytvořit dva nové rody ze současných druhů náležejících k taxonu *Austrosphecodes*, nebo by některé druhy náležející do taxonu *Austrosphecodes* musely být přearány k rodu *Microsphecodes*.

Taxony *Austrosphecodes* a *Microsphecodes* mají některé společné rysy, které mohou podporovat jejich společné postavení mimo rod *Sphecodes*. Oba se například na rozdíl od zástupců rodu *Sphecodes* sensu stricto (rod *Sphecodes* mimo taxonů *Austrosphecodes* a *Microsphecodes*) vyskytují v Jižní Americe a jsou to menší druhy s některými společnými morfologickými znaky (Michener, 2007).

Rod *Eupetersia* byl doposud společně s rodem *Ptilocleptis* považovaný za bazální linii tribu Sphecodini (Michener, 2007), nicméně v obou analýzách alignmentu č. 1 jako bazální nevychází a místo toho tvoří sesterskou skupinu rodu *Sphecodes* s. s. Ve fylogenezi získané metodou molekulárního datování tvoří *Eupetersia* dokonce vnitřní skupinu rodu *Sphecodes* s. s. Nejasnosti v postavení tohoto rodu jsou pravděpodobně spojeny s problematickou skupinou druhů *Sphecodes majalis*, *S. ranunculi*, *S. spinulosus*, která má téměř v každé analýze jinou pozici, jež je vždy jen slabě podpořená. Jelikož tato skupina vždy zaujímá některou z bazálních pozic v rámci rodu *Sphecodes*, případně tvoří i bazální taxon celého tribu, je tímto problémem ovlivněno i zařazení rodu *Eupetersia*, který je pravděpodobně rodu *Sphecodes* sensu stricto více příbuznější než rod *Austrosphecodes*. Nicméně fylogenetickou pozici nelze ze současných výsledků s jistotou stanovit.

Stejně tak problematické postavení skupiny druhů *S. majalis*, *S. ranunculi* a *S. spinulosus* komplikuje i odpověď na otázku, zda je rod *Sphecodes* sensu stricto monofyletickým taxonem. Na základě výsledků fylogenetických analýz nelze monofylii rodu *Sphecodes* s. s. potvrdit ani vyvrátit. Je otázkou, zda by nebylo vhodné skupinu druhů *S. majalis*, *S. ranunculi* a *S. spinulosus* vyčlenit do samostatného rodu. Tato skupina je vzhledem k výsledkům fylogenetických analýz očividně poměrně odlišná od ostatních druhů náležejících do rodu *Sphecodes* a někdy jsou tyto druhy na základě morfologie vyčleňovány do samostatného podrodu *Proteraner* (Robertson, 1903 in Michener, 2007).

Mimo skupinu *S. majalis*, *S. ranunculi* a *S. spinulosus* se fylogeneze ostatních druhů rodu *Sphecodes* sensu stricto dělí do čtyřech hlavních linií. Asi nejhomogennější z nich je skupina zahrnující druhy *Sphecodes pingiculus*, *S. clematidis*, *S. zangheri*, *S. crassus*, *S. croaticus*, *S. pseudofasciatus*, *S. marginatus*, *S. miniatus*, *S. geoffrellus*, *S. ferruginatus* a *S. hyalinatus*, kde naprostá většina druhů parazituje na některém hostiteli ze skupiny „*Lasioglossum* – ostatní podrody“. Monofylii této skupiny podporují i morfologické znaky (samci mají velký podélný vtisk na bázi každé gonocoxy). Druhou linií tvoří druhy *S. ruficrus*, *S. rubicundus*, *S. pellucidus* a *S. ephippius*. Společnou vlastností těchto druhů je skutečnost, že jejich hostitelem je vždy rod *Andrena*. Ovšem *S. ephippius* má mimo ní i mnoho jiných hostitelů a u druhu *S. pellucidus* byl zaznamenán i hostitelé ze skupiny *Lasioglossum* sensu stricto. Třetí linií tvoří druhy *S. niger*, *S. autumnalis*, *S. confertus*, *S. longulus*, *S. longuloides* a *S. punctipes*. Tato skupina zahrnuje jak evropské, tak severoamerické druhy a většina druhů parazituje na hostitelích ze skupiny „*Lasioglossum* - ostatní podrody“. Poslední linie zahrnuje druhy *S. albilabris*, *S. scabricolis*, *S. cristatus*, *S. olivieri*, *S. monilicornis*, *S. alternatus*, *S. reticulatus*, *S. gibbus*, *S. schencki* a *S. rufiventris*. V této skupině se vyskytuje mnoho různých hostitelů, ale převládá rod *Halictus* a hostitelé ze skupiny *Lasioglossum* sensu stricto.

Na vyřešení otázek kolem druhů *S. marginatus* a *S. miniatus* by byly potřeba další studie, které by se na tyto druhy zaměřily. V současné době nelze říct, zda se skutečně jedná o dva samostatné druhy nebo jen o druh jeden. A stejně tak nelze vyloučit ani možnost, že současné druhy *S. marginatus* a *S. miniatus* ve skutečnosti obsahují více kryptických druhů.

Oba druhy, u kterých byla pozorována individuální specializace (*S. ephippius* a *S. monilicornis*), vyšly geneticky poměrně homogenní. Proto je pravděpodobné, že specializace na individuální úrovni zde není okolností, která by vedla ke speciaci, při níž by vznikaly nové specializované druhy.

Téměř všechny druhy náležející do rodu *Sphecodes* sensu stricto tvoří monofyletické taxony. Výjimkou jsou pouze druhy *S. marginatus* a *S. miniatus*, kde je situace značně

nejasná a druh *S. ferruginatus*, který vychází parafyleticky a jeho vnitřní skupinu tvoří druh *S. hyalinatus*. Nicméně pro potvrzení tohoto fylogenetického členění by bylo potřeba dalších studií.

5.2 Specializace na zdroje

5.2.1 Definice specialisty a generalisty

Velkým problémem provázejícím všechny studie zabývající se hostitelskou specializací nebo obecněji specializací na zdroje je, jak stanovit, zda je daný druh generalista nebo specialista.

Na tuto problematiku se dá nahlížet z různých pohledů. Ve většině případů je specializace chápána fylogeneticky. To znamená, že spektrum využívaných zdrojů druhem, který je označován za generalistu, obsahuje více různých taxonů, než spektrum zdrojů druhu specializovaného. Klíčová otázka se pak v tomto případě točí kolem toho, kde má být dělicí čára mezi specialisty a generalisty. Fylogenetický pohled ovšem přináší určitá omezení. Například skutečnost, že jsou od sebe dva druhy fylogeneticky vzdálené, ještě neznamená, že si nejsou podobné ekologicky. Jedinec také nemusí být schopný od sebe některé zdroje rozlišovat a tudíž mu může více druhů splývat v jediný. Navíc existují zdroje, pro jejichž využívání je potřeba velmi speciální přizpůsobení (například z důvodu toxicity) a zdroje, které je obecně snadné využívat (Robinson & Wilson, 1998). Nastavením pouze fylogenetického měřítka nebereme výše zmíněné skutečnosti v úvahu. Jaká kritéria by se tedy měla použít k rozlišení specialistů a generalistů? Nejlepší budou zřejmě taková, která co nejvíce odpovídají pohledu samotného studovaného druhu. Při určování, zda je druh specialista nebo generalista bychom si tedy měli klást tyto otázky:

- (1) Jaká je schopnost daného druhu rozlišovat mezi různými zdroji? Neboli jak moc mu jednotlivé zdroje splývají. Například nezáleží na tom, zda my rozlišujeme u parazita dva hostitelské druhy, ale zda je jako dva druhy vnímá i parazit.
- (2) Jak velké přizpůsobení je pro využívání daného zdroje vyžadováno? Neboli jaké jsou bariéry bránící daný zdroj využívat? V případě, že je druh „specializovaný“ na zdroj, který je obecně snadné využívat, nemusí to znamenat, že je skutečným specialistou. Důvodem pro využívání takového zdroje může být například jeho hojnost a v případě jeho vymizení, nemusí mít studovaný druh problém využívat i ostatní zdroje (Hoberg & Brooks, 2008).

- (3) Jaké jsou u studovaného druhu preference pro jednotlivé zdroje? Je například rozdíl mezi situacemi, kdy druh využívá dva zdroje rovnoměrně a situacemi, kdy jeden z těchto zdrojů preferuje a druhý využívá jen v krizové situaci (Poulin & Mouillot, 2005; Poulin, 2007).

Získat odpovědi na tyto otázky je ovšem ve většině případů problém, protože to vyžaduje velmi podrobné znalosti o studovaném druhu, které nejsou ve většině případů k dispozici. V této situaci bychom pak měli zhodnotit, zda je při omezené znalosti těchto aspektů lepší se jimi nezabývat a zvolit striktní fylogenetické měřítko, nebo se snažit na základě omezených znalostí hostitelskou specializaci odhadnout.

Navíc i v případě, že si na všechny otázky dovedeme spolehlivě odpovědět, stále existuje další problém a to, jaká konkrétní kritéria pro rozlišení specialistů a generalistů stanovit. Velice snadno se nám vzhledem k rozmanitosti ekologických vztahů, totiž může stát, že takové rozdělení bude z velké části umělé. Z důvodu, aby rozdělení co nejvíce odpovídalo skutečné situaci, jsou často vytvářeny další kategorie jako například individuální specialisté (Bolnick et al., 2003), relativní generalisté (specialisté se zachovanou schopností využívat i jiné zdroje) (Kelley & Farrell, 1998), falešní generalisté (specialisté, ovšem v každé geografické oblasti na jiný zdroj) nebo falešní specialisté (generalisté, kteří ovšem z důvodu konkurence „pravých specialistů“ využívají v každé geografické oblasti jen omezené spektrum zdrojů) (Brooks & McLennan, 2002).

Pokud se nám i přes všechny zmíněné komplikace podaří zvolit kritéria a kategorie tak, aby skutečně dobře odpovídaly situaci u námi studované skupiny druhů, je otázkou, jak moc budou naše výsledky srovnatelné se studiemi u jiných ať už fylogenetických nebo ekologických skupin. Takové rozdělení, které opravdu odpovídá pohledu námi studovaných organismů pochopitelně nelze použít univerzálně. Proto musíme u každé další studované skupiny znovu přemýšlet o tom, jak vhodně nastavit kritéria, aby co nejlépe odpovídala skutečnosti.

5.2.1.1 Určování hostitelské specializace u kukaččích včel

U kukaččích včel zůstává ohledně tématu hostitelské specializace velké množství nejasností. Jednou z nich je například způsob, jakým je kukaččí včela na svého hostitele specializovaná. Nejsou totiž známy bariéry, které brání přeskokům na jiné hostitele. Ohledně této otázky nebyl prováděn žádný výzkum, ale existují skutečnosti, které s velkou pravděpodobností libovolnému střídání hostitelů brání. Asi nejzřejmější z nich je velikost těla kukaččí včely ve srovnání s velikostí hostitele. Příliš malý hostitel může být nevhodný

ze dvou důvodů: (1) larva kukaččí včely nemá v hostitelské buňce dostatek pylových zásob, aby se mohla vyvinout v dospělce. (2) pro dospělou parazitickou samici může být díky malé velikosti vletového otvoru nemožné se vůbec do hostitelského hnízda dostat. Taková situace byla pozorována u samic druhu *Sphecodes crassus*. Dospělé samice, které se vylíhly v buňkách určených pro královny sociálního druhu *Lasioglossum pauxillum*, byly tak velké, že se později nemohly do hnízda toho samého druhu dostat, protože vletový otvor byl již uzpůsoben velikosti menších dělnic (Straka, vlastní pozorování).

Velká variabilita ve velikosti u druhů *Sphecodes monilicornis* a *S. ephippius* je velmi pravděpodobně způsobena velmi širokým hostitelským spektrem. Velikost parazitického jedince totiž pravděpodobně odpovídá velikosti hostitelského druhu, v jehož buňkách se vyvíjel. Tento faktor by mohl podporovat i individuální specializaci, která byla u těchto druhů pozorována. Každý jedinec by mohl parazitovat jen na určitém výseku z celkového seznamu hostitelských druhů, právě kvůli své velikosti a nejvýhodnějším hostitelem by pro něj mohl být ten, v jehož pylových buňkách se vyvinul.

Další bariérou ztěžující přeskok na nového hostitele může být pylová specializace hostitelských včel. Vzhledem ke skutečnosti, že se larvy pylosběrných včel v některých případech nedokáží vyvinout na pylu nasbíraném jiným druhem včely (pyl některých rostlin je pro ně toxický) (Williams, 2003; Praz et al., 2008; Sedivy et al., 2011), je pravděpodobné, že podobný princip bude fungovat i u včel kukaččích. Parazitická včela si pak za hostitele musí vybírat druhy, které sbírají pro ni netoxický pyl.

Je rovněž otázkou, zda jsou kukaččí včely na své hostitele specializované i prostřednictvím parazitické strategie, kterou používají. Zda by například u hostitelských druhů, kde parazitují včely kladoucí vajíčka do otevřených buněk, mohly se stejnou úspěšností parazitovat i včely kladoucí do buněk uzavřených, nebo naopak. Ale nejsou známy žádné důvody, proč by tomu tak být nemohlo.

Systém hostitelské specializace u kukaččích včel není pravděpodobně jednoznačný v tom smyslu, že by se dané druhy daly snadno rozdělit na specialisty a generalisty. To nám naznačuje například situace pozorovaná u druhu *Sphecodes albilabris*, který je specializovaný na časně jarní hostitelský druh *Colletes cunicularius* (Blüthgen, 1934; Westrich, 1989). Nicméně byla zaznamenána i parazitace u letního druhu *Melitturga clavicornis* (Rozen, 1965), který přísluší dokonce k jiné čeledi než *Colletes cunicularius*. To je pravděpodobně způsobeno skutečností, že samice druhu *Colletes cunicularius* žijí kratší dobu, než samice *Sphecodes albilabris*. Tím pádem v pozdějším období sezóny tohoto parazitického druhu není

již preferovaný hostitel k dispozici. Pro kukaččí včelu je v takové situaci výhodné zkusit parazitovat i hnízda jiných hostitelů, a to i přesto, že na ně není tak dobře přizpůsobená a její úspěšnost může být nižší. Je tedy *Sphecodes albilabris* specialistou, protože má jednoho preferovaného hostitele a nebo je generalistou, protože je schopen využívat více různých hostitelů? Taková situace nebude pravděpodobně vzhledem k poměrně dlouhověkosti kukaččích včel výjimkou. Navíc může tento problém vzniknout i z druhé strany: Určitý kukaččí druh má mnoho hostitelů u kterých parazituje, ale jen jeden z nich je pro něj naprosto klíčový, protože by bez něj nepřežil. Měli bychom tento druh považovat za generalistu, protože využívá mnoho různých hostitelů a nebo za specialistu, protože jen jeden z těchto hostitelů je pro něj klíčový?

Velkým problémem při určování hostitelské specializace u kukaččích včel je většinou jen malý počet záznamů dokládajících určitého hostitele. Samotná skutečnost, že je u parazitické včely znám určitý hostitel, totiž ještě nevyklučuje, že má včela i hostitele jiné. Existuje tak poměrně velká pravděpodobnost, že druh označíme za specialistu, i když je ve skutečnosti generalista a jen u něj nebyly všichni hostitelé pozorováni.

5.2.1.2 Určování hostitelské specializace u kukaččích včel rodu *Sphecodes*

Protože jsou znalosti o kukaččích včelách z tribu Sphecodini poměrně omezené a nelze tedy najít takové definice specialistů a generalistů, které by co nejlépe odpovídaly pohledu samotných kukaččích druhů, byla kritéria určující, zda je daný druh specialista nebo generalista nastavena třemi různými způsoby. Takto mohlo být dosaženo co nejkomplexnější představy o chování systému při různě širokých definicích specialistů a generalistů.

Stále je ovšem nutné mít na paměti, že počet generalistů může být díky omezenému množství záznamů o hostitelích podhodnocen.

Druhy *Sphecodes monilicornis* a *S. ephippius* byly pro účely analýz označeny jako generalisté, přestože u nich byla pozorována individuální specializace. U ostatních generalistických druhů z tohoto tribu totiž nebyla možnost individuální specializace vůbec zkoumána a proto by bylo vyčlenění těchto dvou druhů do samostatné kategorie problematické.

K lepšímu pochopení systému hostitelské specializace v tribu Sphecodini by byla potřeba další pozorování, která by upřesnily výčet hostitelských druhů a nejlépe i stanovila jejich důležitost pro jednotlivé kukaččí včely. Přínosem by byly i etologicko-fyziologické studie, které by objasnily způsob, jakým kukaččí včela rozpoznává svého hostitele.

5.2.2 Hostitelská specializace rodu *Sphecodes* v průběhu evoluce

5.2.2.1 Specializace jako původní strategie rodu *Sphecodes*

Všechny výsledky mapování ancestrálních stavů hostitelské specializace shodně naznačují, že primární strategií u kukaččích včel rodu *Sphecodes* je specializace a generalismus je naopak vysoce odvozenou strategií, která vznikla teprve v nedávné době. V této souvislosti by bylo pravděpodobné, že generalisté jsou specializovaní na individuální úrovni a díky tomu dokáží se specialisty držet krok nebo být dokonce díky velkému množství potenciálních hostitelů ještě úspěšnější.

Při interpretaci výsledků mapování ancestrálních stavů hostitelské specializace je ale potřeba opatrnosti. Jak již bylo uvedeno výše, počet generalistů u recentních zástupců může být ve skutečnosti větší, protože je díky malému počtu hostitelských pozorování můžeme mylně považovat za specialisty. Je ovšem otázkou kolik takových neodhalených generalistů může mezi uvedenými druhy existovat. I při použití nejširší definice generalistů (III. rozdělení) vychází ve většině vnitřních nodů jako pravděpodobnější stav specialista. V Bayesovské analýze sice není tento stav u většiny počítaných nodů statisticky podpořen, ale počítané byly právě ty nody, kde je pravděpodobnost generalisty nejvyšší. V ostatních nodech, které počítány nebyly, bude tato pravděpodobnost logicky nižší. Aby se celkový výsledek obrátil na druhou stranu (ve většině nodů by vycházeli pravděpodobněji generalisté), musela by jich být více než třetina, což znamená ještě větší počet než při použití nejširší definice generalistů.

Dále je potřeba si uvědomit, že mapování ancestrálních stavů znaků nemusí některé evoluční trendy vůbec zachytit. Situaci, kdy by společný kukaččí předek vznikl jako generalista, ale díky intenzivnímu selekčnímu tlaku se velmi rychle specializoval, nemůžeme použitými analýzami zjistit. A tato skutečnost neplatí jen pro kořen stromu, ale obecně pro každý vnitřní nod. Nový kukaččí druh tak může vždy vznikat jako generalistický, ale jeho specializace je natolik rychlá, že ji nezachytíme. Ostatně pokud změna hostitele neprobíhá jen formou kospeciace, měla by vždy při přeskoku na nového hostitele existovat alespoň krátká generalistická fáze, kdy je druh schopen parazitovat u stávajícího i u nového hostitele (Agosta et al., 2010).

Hypotézu, že byl nejbližší společný předek rodu *Sphecodes* specialista, nicméně podporují i výsledky analýz mapujících ancestrální hostitele. V obou analýzách sice vychází, že tento předek mohl mít dva různé hostitele (*Lassioglossum* sensu stricto, „*Lasioglossum* - ostatní podrody“), ale z výsledků molekulárního datování je zřejmé, že společný předek rodu

Sphecodes existoval dříve, než došlo k oddělení těchto dvou linií. Nejbližší společný předek rodu *Sphecodes* byl tedy pravděpodobně specialista a jeho hostitelem byl předek současných linií rodu *Lasioglossum*.

5.2.2.2 Je specializace slepou uličkou?

Výsledky použitých analýz jsou v rozporu s hypotézou specializace jako slepé uličky (Cope, 1904). Nejenže podle výsledků mapování ancestrálních stavů hostitelské specializace vznikli generalisté teprve nedávno a ze specialistů, ale v rozporu s touto hypotézou jsou i výsledky testování ireverzibilního vývoje hostitelské specializace. Podle těchto výsledků jsou oba modely, ve kterých je umožněn jen jeden směr vývoje hostitelské specializace signifikantně horší než model, který umožňuje vývoj hostitelské specializace v obou směrech. To naznačuje, že evoluce může běžet oběma směry (ze specialistů mohou vznikat generalisté i z generalistů mohou vznikat specialisté), a tím pádem neexistuje jedna univerzálně výhodnější strategie, ke které by kukaččí včely v průběhu evoluce směřovaly.

5.2.2.3 Kospeciace nebo přeskoky na nové hostitele?

Hypotézu specializace jako slepé uličky nepodporují ani výsledky mapování ancestrálních hostitelů. Z nich je totiž zřejmé, že ke změnám hostitelských druhů dochází u rodu *Sphecodes* poměrně často. Jelikož je hostitelské spektrum kukaččích včel z tohoto rodu velmi široké, je pravděpodobné, že naprostá většina změn nebude zapříčiněna kospeciací parazita s hostitelem, ale skutečným přeskokem na nového hostitele. Výčet hostitelů zahrnuje 3 čeledi včel a společný předek rodu *Sphecodes* není tak starý, aby stihl kospeciovat se svými hostiteli při oddělování jednotlivých čeledí. Navíc uvažíme-li, že hostitelem nejbližšího společného předka byla nějaká ancestrální linie rodu *Lasioglossum*, jsou kospeciální změny hostitelů, alespoň v bazálních nodech stromu, teoreticky možné jen v rámci čeledi Halictidae.

Ke kospeciaci mohlo pravděpodobně dojít přímo na bázi fylogeneze rodu *Sphecodes*. Nejbližší společný předek rodu *Sphecodes* parazitoval na ancestrální linii rodu *Lasioglossum* (viz výše). Tato linie se později rozdělila na dvě, z nichž jedna dala vznik přímo podrodu *Lasioglossum* rodu *Lasioglossum* a druhá většině ze zbytku současných podrodů. Výsledky analýz ukazují, že přibližně ve stejné době se oddělily i dvě linie rodu *Sphecodes*. První z nich parazitovala na linii „ostatních podrodů“ rodu *Lasioglossum* a druhá mohla pravděpodobně parazitovat na linii vedoucí k *Lasioglossum* s.s., přičemž až později se v ní odehrály přeskoky na ostatní hostitele. Mapování v této linii rodu *Sphecodes* ovšem ponechává i možnost jiných scénářů. Například, že by byl jejím ancestrálním hostitelem rod *Halictus*. V takovém případě by se už nejednalo o kospeciaci, ale o přeskok na nového hostitele. V bazální části fylogeneze

rodu *Sphecodes* by se pak současně odehrály dva koevoluční scénáře (podle Johnson et al., 2003): (1) „Opuštění lodi“ (první linie rodu *Sphecodes*) a (2) přeskok na jiného hostitele (druhá linie rodu *Sphecodes*).

Při vyhodnocování výsledků mapování ancestrálních hostitelů je také potřeba myslet na nejasné fylogenetické postavení druhů *Sphecodes majalis*, *S. spinulosus* a *S. niger*. Tyto druhy nemusí ve skutečnosti zaujímat stejnou pozici, jakou mají ve fylogenezi použité pro mapování a to může výsledky zkreslovat. Jejich postavení například podporuje variantu, že na bázi fylogeneze rodu *Sphecodes* skutečně došlo ke kospeciaci. V případě jiného umístění této skupiny ve fylogenezi by se pravděpodobnost kospeciace zřejmě snížila.

Výsledky molekulárního datování nepodporují možnost, že by byla kospeciací zapříčiněna změna hostitele z rodu *Lasioglossum* na rod *Halictus*. Podle výsledků získaných metodou maximální parsimonie mohl na rodu *Halictus* parazitovat nejdříve předek umístěný ve fylogenezi na nodu č. 8 a ten se podle datování vyskytoval až po oddělení linií vedoucích k rodu *Halictus* a k rodu *Lasioglossum*. Podle Bayesovské analýzy je sice možnost parazitace na rodu *Halictus* uvažována již ve dvou dřívějších nodech (č. 4 a č. 2), ale předek náležející k nodu č. 4 se též vyskytoval až po oddělení těchto dvou linií a nod č. 2 je celkově problematický díky tomu, že se v něm odděluje skupina druhů *Sphecodes majalis*, *S. spinulosus* a *S. ranunculi*, jejíž postavení ve fylogenezi je značně nejasné a tím pádem není ani jistá samotná existence tohoto nodu.

5.2.2.4 Přeskoky mezi hostiteli jako běžná evoluční událost

I u ostatních změn hostitelů, které jsou z výsledků analýz patrné, se zřejmě jednalo spíše o přeskoky na nové hostitele, než o kospeciaci. Celkem se podle Bayesovské analýzy odehrálo 13 přeskoků a podle analýzy metodou maximální parsimonie jich bylo o dva méně. Lokalizace těchto přeskoků se v obou analýzách často odlišuje, ale ve většině případů se analýzy shodují v tom, že se určitý přeskok odehrál. Odlišnosti v umístění tedy nejsou pro celkové vyznění výsledků zásadní. Obě analýzy shodně ukazují, že přeskoky mezi hostiteli jsou u rodu *Sphecodes* poměrně běžným jevem a mohou se odehrávat jak ve formě rozšiřování hostitelského spektra, tak i jako výměna stávajícího hostitele za hostitele jiného.

Protože byli hostitelé pro účely mapování ancestrálních stavů rozděleni do skupin reflektujících hostitelské rody, případně podrody, nemohli být zachyceny přeskoky mezi hostiteli na úrovni druhů. Je ovšem pravděpodobné, že na této úrovni dochází místo přeskoků spíše ke kospeciaci. Pro potvrzení této hypotézy by bylo vhodné použít pro mapování ancestrálních hostitelů i hostitelské druhy nebo otestovat, zda se na druhové úrovni

fylogeneze kukaččích včel překrývá s fylogenezí jejich hostitelů. Pro použití těchto dvou metod by ale musela být data o hostitelích mnohem kompletnější, než ta, která jsou k dispozici v současné době. Se současnými daty by byly získané výsledky pravděpodobně velmi zavádějící.

Hostitelská specializace u kukaččích včel je oblast, jejíž poznání se doposud většinou omezovalo pouze na výčet hostitelských druhů. Předložená diplomová práce nastiňuje, jakým způsobem se hostitelská specializace u kukaččích včel v průběhu evoluce vyvíjí. Použité metody mají sice určitá omezení, která jsou diskutována výše, ale na druhou stranu z výsledků získaných při použití různých metod plynou stejné závěry, což jejich důvěryhodnost zesiluje. Získané výsledky výrazně přispívají k pochopení vztahu mezi kukaččí včelou a jejím hostitelem a jsou také přínosem k objasnění principů, jakými se řídí specializace na zdroje obecně.

Pro komplexnější pochopení systému hostitelské specializace u kukaččích včel je do budoucna plánován výzkum mapující vývoj hostitelské specializace u výhradně kukaččí podčeledi Nomadinae náležející do čeledi Apidae. Včely z této podčeledi používají odlišnou parazitickou strategii než rod *Sphecodes* (kladou vajíčka do otevřených buněk) a proto bude zajímavé tyto dva systémy srovnat. Zároveň je plánovaný výzkum zabývající se chováním kukaččí včel při přímé interakci s hostiteli. To může pomoci zjistit, do jaké míry je kukaččí včela schopná svého hostitele rozeznat.

7. Shrnutí

Poprvé byla zkonstruována fylogeneze tribu Sphecodini a to na základě částečných sekvencí pěti genů. Taxon *Austrosphecodes*, doposud považovaný za podrod rodu *Sphecodes*, by si podle výsledků této fylogenetické studie zasloužil rodové postavení. Taxon *Microsphecodes*, dosud považovaný za samostatný rod, by měl být naopak uváděn spíše jako podrod rodu *Austrosphecodes*. Dále je zřejmá odlišnost skupiny zahrnující druhy náležející do rodu *Sphecodes* podrodu *Proteraner* (*Sphecodes majalis*, *S. ranunculi* a *S. spinulosus*) a je otázkou, zda by neměl být tento podrod povýšen na samostatný rod.

Podle mapování ancestrálních stavů znaků byl nejbližší společný předek rodu *Sphecodes* nejpravděpodobněji specialista a jeho hostitelem byla ancestrální linie rodu *Lasioglossum*.

Nebyla potvrzena hypotéza postupné specializace kukaččích včel v průběhu evoluce ani hypotéza specializace jako slepé uličky. Naopak se jako nejpravděpodobnější ukázalo, že evoluce může v rámci rodu *Sphecodes* probíhat oběma směry a poměrně často dochází k přeskokům mezi hostiteli.

Byla diskutována otázka bariér bránících kukaččím včelám přeskočení na nového hostitele. Jako nejvýznamnější se jeví především dvě skutečnosti: (1) poměr velikosti kukaččího druhu k velikosti hostitele a (2) pylová specializace hostitelského druhu. Naopak typ parazitické strategie pravděpodobně kukaččí včelu při změně hostitele příliš neomezuje.

Pro lepší pochopení systému hostitelské specializace u kukaččích včel by byly potřeba další pozorování a studie. Jednoduché rozdělení kukaččích včel na specialisty a generalisty pravděpodobně není správné, protože zde existuje širší spektrum různých strategií. Mezi kukaččími včelami jsou pravděpodobně i individuálně specializované druhy a dále je zřejmě u většiny druhů rozdíl v preferencích pro jednotlivé hostitele.

8. Použitá literatura

- Alfken, J. D. (1912). Die Bienenfauna von Ostpreussen. *Schrift des physisch-ökonomischen Vereins in Königsberg*, 53, 114-182.
- Alfken, J. D. (1913). Die Bienenfauna von Ostpreussen. *Schrift des physisch-ökonomischen Vereins in Königsberg*, 53, 114-182.
- Agosta, S. J. (2006). On ecological fitting, plant-insect associations, herbivore host shifts, and host plant selection. *Oikos*, 114, 556-565.
- Agosta, S. J., Janz, N., & Brooks, D. R. (2010). How specialist can be generalist: resolving the "parasite paradox" and implications for emerging infectious disease. *Zoologia*, 27, 151-162.
- Agosta, S. J., & Klemens, J. A. (2008). Ecological fitting by phenotypically flexible genotypes: implications for species associations, community assembly and evolution. *Ecology Letters*, 11, 1123-1134.
- Alm, S. R., & Kurczewski, F. (1984). Ethology of *Anoplius tenebrosus* (Cresson) (Hymenoptera: Pompilidae). *Proceedings of the Entomological Society of Washington*, 86, 110-119.
- Alves-dos-Santos, I., Melo, G. A., & Rozen Jr., J. G. (2002). Biology and Immature Stages of the Bee Tribe Tetrapediini (Hymenoptera: Apidae). *American Museum Novitates*, 3377, 1-45.
- Begon, M., Townsend, C. R., & Harper, J. L. (2006). *Ecology: from individuals to ecosystems* (4th Edition). Oxford: Wiley-Blackwell, 738pp.
- Bennett, F. D. (1972). Observations on *Exarete* spp. and their hosts *Eulaema terminata* and *Euplusia surinamensis* (Hymen., Apidae, Euglossinae) in Trinidad. *Journal of the New York Entomological Society*, 80, 118-124.
- Bennett, F. D. (1966). Notes on the Biology of *Stelis (Odontostelis) bilineolata* (Spinola), a Parasite of *Euglossa cordata* (Linnaeus) (Hymenoptera: Apoidea: Megachilidae). *Journal of the New York Entomological Society*, 74, 72-79.
- Bernays, E. A. (2001). Neural limitations in phytophagous insects: implications for diet breadth and evolution of host affiliation. *Annual Review of Entomology*, 46, 703-727.
- Bischoff, H. (1927). *Biologie der Hymenopteren*. Berlin: J. Springer, 598pp.
- Blüthgen, P. (1934). Die Wirte der Paläarktischen *Sphecodes*-Arten. *Zeitschrift Wissenschaftlicher Insekten-Biologie*, 27, 33-42, 61-66.
- Bogusch, P. (2003). Biologie vybraných druhů kleptoparazitických včel (Hymenoptera: Apocrita, Apoidea). *Diplomová práce. Katedra zoologie, PřF UK, Praha*, 96pp.
- Bogusch, P., Kratochvíl, L., & Straka, J. (2006). Generalist cuckoo bees are species specialist in an individual level (Hymenoptera: Apoidea, *Sphecodes*). *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 60, 422-429.
- Bogusch, P., & Straka, J. (in prep.). Review and identification key to the *Sphecodes* (Hymenoptera: Halictidae) cuckoo bees in central Europe.
- Bohart, G. E. (1970). The evolution of parasitism among bees. *Utah State University 41st Faculty Honor Lecture*, 33pp.

- Bolnick, D. I., Svanbäck, R., Fordyce, J. A., Yang, L. H., Davis, J. M., Hulsey, D. C., & Forister, M. L. (2003). The Ecology of Individuals: Incidence and Implications of Individual Specialization. *The American Naturalist* , 161, 1-28.
- Boulton, A. M., & Polis, G. A. (2002). Brood Parasitism among Spiders: Interactions between Salticids and *Diguetia mojavea*. *Ecology* , 83, 282-287.
- Brant, S., & Gardner, S. L. (2000). Phylogeny of Species of the Genus *Litomosoides* (Nematatoda: Onchocercidae): Evidence of Rampant Host Switching. *The Journal of Parasitology* , 86, 545-554.
- Brooks, D. R., & McLennan, D. A. (2002). *The nature of diversity: an evolutionary voyage of discovery*. Chicago: University of Chicago Press, 668pp.
- Cardinal, S. C., & Danforth, B. N. (unpublished). Simultaneous origins of bees and eudicots: implications for Darwin's abominable mystery
- Cardinal, S., Straka, J., & Danforth, B. N. (2010). Comprehensive phylogeny of apid bees reveals the evolutionary origins and antiquity of cleptoparasitism. *Proceedings of the National Academy of Sciences* , 107, 16207-16211.
- Carroll, L. (1988). *Alenka v kraji divů a Zrcadlem*. Praha: Albatros, 161pp.
- Cope, E. D. (1904). *The primary factors of organic evolution*. Chicago: Open Court Publishing, 547pp.
- Crespi, B. J., & Sandoval, C. P. (2000). Phylogenetic evidence for the evolution of ecological specialization in *Timema* walking-sticks. *Journal of Evolutionary Biology* , 13, 249-262.
- Dabert, J., & Mironov, S. V. (1999). Origin and evolution of feather mites (Astigmata). *Experimental and Applied Acarology* , 23, 437-454.
- Danforth, B. N. (1989). Nesting Behavior of Four Species of *Perdita* (Hymenoptera: Andrenidae). *Journal of the Kansas Entomological Society* , 62, 59-79.
- Danforth, B. N. (1999). Phylogeny of the bee genus *Lasioglossum* (Hymenoptera: Halictidae) based on mitochondrial COI sequence data. *Systematic Entomology* , 24, 377-393.
- Danforth, B. N. (2002). Evolution of sociality in a primitively eusocial lineage of bees. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* , 99, 286-290.
- Danforth, B. N., & Brady, S. G. (unpublished). Dating the antiquity of eusociality in Halictid bees.
- Danforth, B. N., Brady, S. G., Sipes, S. D., & Pearson, A. (2004). Single-Copy Nuclear Genes Recover Cretaceous-Age Divergences in Bees. *Systematic Biology* , 53, 309-326.
- Danforth, B. N., Conway, L., & Ji, S. (2003). Phylogeny of eusocial *Lasioglossum* reveals multiple losses of eusociality within a primitively eusocial clade of bees (Hymenoptera: Halictidae). *Systematic Biology* , 52, 23-36.
- Danforth, B. N., Eardley, C., Packer, L., Walker, K., Pauly, A., & Randrianambinintsoa, F. J. (2008). Phylogeny of Halictidae with an emphasis on endemic African Halictinae. *Apidologie* , 39, 86-101.
- Danforth, B. N., Fang, J., & Sipes, S. (2006a). Analysis of family-level relationships in bees (Hymenoptera: Apiformes) using 28S and two previously unexplored nuclear genes: CAD and RNA polymerase II. *Molecular Phylogenetics and Evolution* , 39, 358-372.
- Danforth, B. N., & Ji, S. (2001). Australian *Lasioglossum* + *Homalictus* form a monophyletic group: resolving the 'Australian enigma'. *Systematic Biology* , 50, 268-283.

- Danforth, B. N., Saquet, H., & Packer, L. (1999). Phylogeny of the Bee Genus *Halictus* (Hymenoptera: Halictidae) Based on Parsimony and Likelihood Analyses of Nuclear EF-1a Sequence Data. *Molecular Phylogenetics and Evolution* , 13, 605–618.
- Danforth, B. N., Sipes, S., Fang, J., & Brady, S. G. (2006b). The history of early bee diversification based on five genes plus morphology. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* , 103, 15118-15123.
- Dawkins, R., & Krebs, J. R. (1979). Arms races between and within species. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B* , 205, 489-511.
- Desdevises, Y., Morand, S., & Legendre, P. (2002). Evolution and determinants of host specificity in the genus *Lamellodiscus* (Monogenea). *Biological Journal of the Linnean Society* , 77, 431-443.
- Drummond, A. J., Ho, S. Y. W., Phillips, M. J., & Rambaut, A. (2006). Relaxed Phylogenetics and Dating with Confidence. *PLoS Biology* , 4, e88
- Drummond, A. J., & Rambaut, A. (2007). BEAST: Bayesian evolutionary analysis by sampling trees. *BMC Evolutionary Biology* , 7, 214.
- Eickwort , G. C. (1977). Aspects of the Nesting Biology and Descriptions of Immature Stages of *Perdita octumaculata* and *P. halictoides* (Hymenoptera: Andrenidae). *Journal of the Kansas Entomological Society* , 50, 577-599.
- Engel, M. S. (2001). A monograph of the Baltic amber bees and the evolution of the Apoidea (Hymenoptera). *Bulletin of the American Museum of Natural History* , 259, 1–192
- Favret, C., & Voegtlin, D. J. (2004). Speciation by host-switching in pinyon *Cinara* (Insecta: Hemiptera: Aphididae). *Molecular Phylogenetics and Evolution* , 32, 139-151.
- Field, J. (1992). Intraspecific parasitism as an alternative reproductive tactic in nest-building wasp and bees. *Biological Reviews* , 67, 79-126.
- Field, J. (1996). Patterns of provisioning and iteroparity in a solitary halictinae bee, *Lasioglossum (Evylaeus) fratellum* (Perez), with notes on *L. (E.) calceatum* (Scop.) and *L. (E.) villosulum* (K.). *Insectes Sociaux* , 43, 167–182.
- Fox, C. W., Nilsson, J. A., & Mousseau, T. A. (1997). The ecology of diet expansion in a seed-feeding beetle: Pre-existing variation, rapid adaptation and maternal effects? *Evolutionary Ecology* , 11, 183-194.
- Futuyma, D. J., Keese, M. C., & Scheffer, S. J. (1993). Genetic Constraints and the Phylogeny of Insect-Plant Associations: Responses of *Ophraella communa* (Coleoptera: Chrysomelidae) to Host Plants of its Congeners. *Evolution* , 47, 888-905.
- Futuyma, D. J., & Moreno, G. (1988). The Evolution of Ecological Specialization. *Annual Review of Ecology and Systematics* , 19, 207-233.
- Garófalo, C. A., & Rozen Jr., J. G. (2001). Parasitic Behavior of *Exaerete smaragdina* with Descriptions of Its Mature Oocyte and Larval Instars (Hymenoptera: Apidae: Euglossini). *American Museum Novitates* , 3349, 1-26.
- Griekspoor, A. & Groothuis, T. (2006). 4Peaks, mekentosj.com
- Habermannová, J. (2009). Parazitické strategie kukaččích včel (Hymenoptera: Apoidea). *Bakalářská práce. Katedra Zoologie, Přf UK, Praha*, 40pp.
- Hall, T. A. (1999). BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Series* , 41, 95-98.

- Hammond, P. M. (1976). Kleptoparasitic Behaviour of *Onthophagus suturalis* Peringuey (Coleoptera: Scarabaeidae) and Other Dung-Beetles. *The Coleopterists Bulletin* , 30, 245-249.
- Hermann, M. (2006). Wirtsbindung und Habitate der Blutbiene *Sphecodes ruficrus* (Erichson 1835). *Mitteilungen der entomologische Vereins in Stuttgart* , 41, 55-60.
- Hermann, M., Burger, F., Müller, A., & Tischendorf, S. (2003). Verbreitung, Lebensraum und Biologie der Furchenbiene *Lasioglossum pallens* (Brullé 1832) und ihrer Kuckucksbiene *Sphecodes majalis* Pérez 1903 in Deutschland (Hymenoptera, Apidae, Halictinae). *Carolinea* , 61, 133-144.
- Hoberg, E. P., & Brooks, D. R. (2008). A macroevolutionary mosaic: episodic host-switching, geographical colonization and diversification in complex host-parasite systems. *Journal of Biogeography* , 35, 1533-1550.
- Hull, F. M. (1973). *Bee flies of the world: the genera of the family Bombyliidae*. Washington: Smithsonian Institution Press, 687pp.
- Huelsenbeck, J. P., & Ronquist, F. (2001). MRBAYES: Bayesian inference of phylogeny. *Bioinformatics* , 17, 754-755.
- Chittka, L., Thomson, J. D., & Waser, N. M. (1999). Flower Constancy, Insect Psychology, and Plant Evolution. *Naturwissenschaften* , 86, 361-377.
- Iyengar, E. V. (2008). Kleptoparasitic interaction throughout the animal kingdom and a re-evaluation, based on participant mobility, of the conditions promoting the evolution of kleptoparasitism. *Biological Journal of the Linnean Society* , 93, 745-762.
- Jaenike, J. (1990). Host Specialization in Phytophagous Insects. *Annual Review of Ecology and Systematics* , 21, 243-273.
- Janz, N., & Nylin, S. (1998). Butterflies and Plants: A Phylogenetic Study. *Evolution* , 52, 486-502.
- Janz, N., Nyblom, K., & Nylin, S. (2001). Evolutionary dynamics of host-plant specialization: a case study of the tribe Nymphalini. *Evolution* , 55, 783-796.
- Janz, N., Nylin, S., & Wahlberg, N. (2006). Diversity begets diversity: host expansions and the diversification of plant-feeding insects. *BMC Evolutionary Biology* , 6, doi:10.1186/1471-2148-6-4.
- Janzen, D. (1985). On ecological fitting. *Oikos* , 45, 308-310.
- Johnson, K. P., Adams, R. J., Page, R. D., & Clayton, D. H. (2003). When Do Parasites Fail to Speciate in Response to Host Speciation? *Systematic Biology* , 52, 37-47.
- Kawecki, T. J. (1994). Accumulation of Deleterious Mutations and the Evolutionary Cost of Being a Generalist. *The American Naturalist* , 144, 833-838.
- Kawecki, T. J. (1998). Red Queen Meets Santa Rosalia: Arm Races and Evolution of Host Specialization in Organisms with Parasitic Lifestyles. *The American Naturalist* , 152, 833-838.
- Kelley, S. T., & Farrell, B. D. (1998). Is Specialization a Dead End? The Phylogeny of Host Use in *Dendroctonus* Bark Beetles (Scolytidae). *Evolution* , 52, 1731-1743.
- Koh, L. P., Dunn, R. R., Sodhi, N. S., Colwell, R. K., Proctor, H. C., & Smith, V. S. (2004a). Species Coextinctions and the Biodiversity Crisis. *Science* , 305, 1632-1634.
- Koh, L. P., Sodhi, N. S., & Brook, B. W. (2004b). Co-Extinctions of Tropical Butterflies and Their Hostplants. *Biotropica* , 36, 272-274.

- Krombein, K. V. (1967). *Trap-nesting wasps and bees: life histories, nests, and associates*. Washington: Smithsonian press, 570pp.
- Lanyon, S. M. (1992). Interspecific Brood Parasitism in Blackbirds (Icterinae): A Phylogenetic Perspective. *Science* , 255, 77-79.
- Lopez-Vaamonde, C., Godfray, H. C. J., & Cook, J. M. (2003). Evolutionary dynamics of host-plant use in a genus of leaf-mining moths. *Evolution* , 57, 1804–1821.
- Losos, J. B., Irschick, D. J., & Schoener , T. W. (1994). Adaptation and Constraint in the Evolution of Specialization of Bahamian *Anolis* Lizards. *Evolution* , 48, 1786-1798.
- Maddison, W. P., & Maddison, D. R. (2010). Mesquite: a modular system for evolutionary analysis. Version 2.74 <http://mesquiteproject.org>.
- Michener, C. D. (1978). The Parasitic Groups of Halictidae (Hymenoptera, Apoidea). *The University of Kansas science bulletin* , 51, 291-339.
- Michener, C. D. (1979). Biogeography of the Bees. *Annals of the Missouri Botanical Garden* , 66, 277-347.
- Michener, C. D. (2007). *The Bees of the World* (2nd Edition). Baltimore: Johns Hopkins University Press, 953pp. Michener, C. D. (1979). Biogeography of the Bees. *Annals of the Missouri Botanical Garden* , 66, 277-347.
- Michener , C. D., & Poinar Jr, G. (1996). The Known Bee Fauna of the Dominican Amber. *Journal of the Kansas Entomological Society* , 69, 353-361 .
- Mode, C. J. (1958). A Mathematical Model for the Co-Evolution of Obligate Parasites and Their Hosts. *Evolution* , 12, 158-165.
- Moldenke, A. R. (1975). Niche Specialization and Species Diversity along a California Transect. *Oecologia* , 21, 219-242.
- Müller, A. (1996). Host-Plant Specialization in Western Palearctic Anthidine Bees (Hymenoptera: Apoidea: Megachilidae). *Ecological Monographs* , 66, 235-257.
- Müller, A., Diener, S., Schnyder, S., Stutz, K., Sedivy, C., & Dorn, S. (2006). Quantitative pollen requirements of solitary bees: Implications for bee conservation and the evolution of bee–flower relationships. *Biological Conservation* , 130, 604-615.
- Neumeyer, R., & Obriest, M. K. (2000). *Lasioglossum rufitarse* (Zetterstedt, 1838) as a new host of *Sphecodes geoffrellus* (Kirby, 1802)? *Bembix* , 13, 9-10.
- O'Neill, K. M. (2001). *Solitary wasps: behavior and natural history*. New York: Cornell University Press, 406pp.
- Pagel, M. (1994). Detecting Correlated Evolution on Phylogenies: A General Method for the Comparative Analysis of Discrete Characters. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* , 255, 37-45.
- Pagel, M., Meade, A., & Barker, D. (2004). Bayesian Estimation of Ancestral Character States on Phylogenies. *Systematic Biology* , 53, 673-684.
- Paterson, A. M., Gray, R. D., & Wallis, G. P. (1993). Parasites, petrels and penguins: Does louse presence reflect seabird phylogeny? *International Journal for Parasitology* , 23, 515-526.
- Paterson, A. M., & Poulin, R. (1999). Have chondracanthid copepods co-specified with their teleost hosts? *Systematic Parasitology* , 44, 79–85.

- Payne, R. B. (1977). The Ecology of brood parasitism in birds. *Annual Review of Ecology and Systematics* , 8, 1-28.
- Poulin, R. (2007). *Evolutionary Ecology of Parasites* (2nd Edition). New Jersey: Princeton University Press, 332pp.
- Poulin, R., Krasnov, B. R., Shenbrot, G. I., Mouillot, D., & Khokhlova, I. S. (2006). Evolution of host specificity in fleas: Is directional and irreversible? *International Journal for Parasitology* , 36, 185-191.
- Poulin, R., & Mouillot, D. (2005). Combining phylogenetic and ecological information into a new index of host specificity. *Journal of Parasitology* , 91, 511-514.
- Praz, C. J., Müller, A., & Dorn, S. (2008). Specialized Bees Fail to Develop on Non-Host Pollen: Do Plants Chemically Protect Their Pollen? *Ecology* , 89, 795-804.
- Price, R. D., Clayton, D. H., & Adams, R. J. (2000). Pigeon Lice down under: Taxonomy of Australian Campanulotes (Phthiraptera: Philopteridae), with a Description of *C. durdeni* n. sp. *The Journal of Parasitology* , 86, 948-950.
- Rambaut, A., & Drummond, A. (2009). Tracer v 1.5, available from <http://beast.bio.ed.ac.uk/Tracer>.
- Rambaut, A., & Drummond, A. (2010). LogCombiner v 1.6.1, available from <http://beast.bio.ed.ac.uk/LogCombiner>.
- Rambaut, A., & Drummond, A. (2010). TreeAnnotator v 1.6.1, available from <http://beast.bio.ed.ac.uk/TreeAnnotator>.
- Rees, E. C., & Hillgarth, N. (1984). The breeding biology of captive Black-headed Ducks and the behaviour of their young. *The Condor* , 86, 242-250.
- Robertson, C. (1903). Synopsis of Sphecodinae. *Entomological News* , 14, 103-107: In Michener, C. D. (2007). *The Bees of the World* (2nd Edition). Baltimore: Johns Hopkins University Press, 953pp. Michener, C. D. (1979). Biogeography of the Bees. *Annals of the Missouri Botanical Garden* , 66, 277-347.
- Robinson, B. W., & Wilson, D. S. (1998). Optimal Foraging, Specialization, and a Solution to Liem's Paradox. *The American Naturalist* , 151, 223-235.
- Rohde, K. (1979). A Critical Evaluation of Intrinsic and Extrinsic Factors Responsible for Niche Restriction in Parasites. *The American Naturalist* , 114, 648-671.
- Ronquist, F., & Liljeblad, J. (2001). Evolution of the gall wasp-host plant association. *Evolution* , 55, 2503-2522.
- Roughgarden, J. (1972). Evolution of Niche Width. *The American Naturalist* , 106, 683-718.
- Rozen Jr, J. G. (1965). The Biology and Immature Stages of *Melitturga clavicornis* (Latreille) and of *Sphecodes albilabris* (Kirby) and the Recognition of the Oxaeidae at the Family Level (Hymenoptera, Apoidea). *American Museum Novitates* , 2224, 1-8.
- Rozen Jr., J. G. (1977). Immature Stages of and Ethological Observations on the Cleptoparasitic Bee Tribe Nomadini (Apoidea, Anthophoridae). *American Museum Novitates* , 2638, 1-27.
- Rozen Jr., J. G. (1986). The Natural History of the Old World Nomadine Parasitic Bee *Pasites maculatus* (Anthophoridae: Nomadinae) and Its Host *Pseudapis diversipes* (Halictidae: Nomiinae). *American Museum Novitates* , 2861, 1-9.

- Rozen Jr., J. G. (1991). Evolution of Cleptoparasitism in Anthophorid Bees as Revealed by Their Mode of Parasitism and First Instars (Hymenoptera: Apoidea). *American Museum Novitates* , 3029, 1-36.
- Rozen Jr., J. G. (1992). Biology of the Bee *Ancylandrena larreae* (Andrenidae: Andreninae) and its Cleptoparasite *Hexepeolus rhodogyne* (Anthophoridae: Nomadinae) with a Review of Egg Deposition in the Nomadinae (Hymenoptera: Apoidea). *American Museum Novitates* , 3038, 1-15.
- Rozen Jr., J. G. (2003). Eggs, Ovariole Numbers, and Modes of Parasitism of Cleptoparasitic Bees, with Emphasis on Neotropical Species (Hymenoptera: Apoidea). *American Museum Novitates* , 3413, 1-36.
- Rozen Jr., J. G., & Özbek, H. (2005). Notes on the Egg and Egg Deposition of the Cleptoparasite *Thyreus ramosus* (Hymenoptera: Apidae: Melectini). *Journal of the Kansas Entomological Society* , 78, 34-40.
- Rozen Jr., J. G., Melo, G. A., Camillo Aguiar, A. J., & Alves-dos-Santos, I. (2006). Nesting Biologies and Immature Stages of the Tapinotaspidine Bee Genera *Monoeca* and *Lanthanomelissa* and of Their Osirine Cleptoparasites *Protosiris* and *Parepeolus* (Hymenoptera: Apidae: Apinae). *American Museum Novitates* , 3501, 1-60.
- Rozen Jr., J. G., Roig-Alsina, A., & Alexander, B. A. (1997). The Cleptoparasitic Bee Genus *Rhopalolemma*, with Reference to Other Nomadinae (Apidae), and Biology of its Host *Protodufourea* (Halictidae: Rophitinae). *American Museum Novitates* , 3194, 1-28.
- Rozen Jr., J. G., & Snelling, R. R. (1986). Ethology of the bee *Exomalopsis nitens* and its cleptoparasite (Hymenoptera: Anthophoridae). *Journal of the New York Entomological Society* , 94, 480-488.
- Sato, T. (1986). A brood parasitic catfish of mouthbrooding cichlid fishes in Lake Tanganyika. *Nature* , 323, 58-59.
- Scheffer, S. J., & Wiegmann, B. M. (2000). Molecular Phylogenetics of the Holly Leafminers (Diptera: Agromyzidae: Phytomyza): Species Limits, Speciation, and Dietary Specialization. *Molecular Phylogenetics and Evolution* , 17, 244-255.
- Sheffield, C. S., Hebert, P. D., Kevan, P. G., & Packer, L. (2009). DNA barcoding a regional bee (Hymenoptera: Apoidea) fauna, and the potential for ecological studies. *Molecular Ecology Resources* , 9, 196-207.
- Schönitzer, K., & Klinksik, C. (1990). The Ethology of the Solitary Bee *Andrena nycthemera* Imhoff, 1866 (Hymenoptera: Apoidea). *Entomofauna* , 11(23/1), 377-427.
- Schulmeister, S. (2003). Simultaneous analysis of basal Hymenoptera (Insecta): introducing robust-choice sensitivity analysis. *Biological Journal of the Linnean Society* , 79, 245-275.
- Sedivy, C., Müller, A., & Dorn, S. (2011). Closely related pollen generalist bees differ in their ability to develop on the same pollen diet: evidence for physiological adaptations to digest pollen. *Functional Ecology* , 25, 718-725.
- Sick, M., Ayasse, M., Tengö, J., Engels, W., Lübke, G., & Francke, W. (1994). Host-Parasite Relationships in Six Species of *Sphecodes* Bees and Their Halictid Hosts: Nest Intrusion, Intranidal Behavior, and Dufour's Gland Volatiles (Hymenoptera: Halictidae). *Journal of Insect Behavior* , 7, 101-117.
- Singer, M. C., Thomas, C. D., & Parmesan, C. (1993). Rapid human-induced evolution of insect-host associations. *Nature* , 366, 681-683.

- Slobodkin, L. B. (1974). Prudent Predation Does Not Require Group Selection. *The American Naturalist* , 108, 665-678.
- Soucy, S. L., & Danforth, B. N. (2002). Phylogeography of the socially polymorphic sweat bee *Halictus rubicundus* (Hymenoptera: Halictidae). *Evolution* , 56, 330-341.
- Sowa, S., & Mostowska, I. (1978). Przyczynek do biologii *Andrena labialis* Kb. (Hym., Apoidea) w województwie olsztynskim. *Polske pismo entomologiczne* , 48, 439-444.
- Stamatakis, A. (2006). RAxML-VI-HPC: Maximum Likelihood-based Phylogenetic Analyses with Thousands of Taxa and Mixed Models. *Bioinformatics* , 22, 2688-2690.
- Stöckhert, F. K. (1933). Die Bienen Frankens (Hym. Apid.). *Deutsches entomologisches Zeitschrifts Beiheft 1932* , 1-294.
- Stork, N. E., & Lyal, C. H. (1993). Extinction or 'co-extinction' rates? *Nature* , 366, 307.
- Straka, J. (2005). Fylogeneze čeledi Apidae (Hymenoptera: Apoidea) a evoluce kleptoparazitizmu u včel . *Diplomová práce, Katedra zoologie, PřF UK, Praha* , 110pp.
- Straka, J. (2009). Evolution of cleptoparasitic behaviour in bees (Hymenoptera: Apoidea). *Dizertační práce. Katedra zoologie, Přf UK, Praha* , 88pp.
- Straka, J., & Bogusch, P. (2007a). Phylogeny of the bees of the family Apidae based on larval characters with focus on the origin of cleptoparasitism (Hymenoptera: Apiformes). *Systematic Entomology* , 32, 700-711.
- Straka, J., & Bogusch, P. (2007b). Description of immature stages of cleptoparasitic bees *Epeoloides coecutiens* and *Leiopodus trochantericus* (Hymenoptera: Apidae: Osirini, Protepeolini) with remarks to their unusual biology. *Entomologica Fennica*, 18, 242-254.
- Tabashnik, B. E. (1983). Host Range Evolution: The Shift From Native Legume Hosts to Alfalfa by the Butterfly, *Colias philodice eriphyle*. *Evolution* , 37, 150-162.
- Thorp, R. W. (2000). The collection of pollen by bees. *Plant Systematics and Evolution* , 222, 211-223.
- Torka, V. (1925). Seltene Bienen Oberschlesiens. *International entomologischer Zeitschrift* , 18, 255-257.
- Trumbo, S. T., Kon, M., & Sikes, D. (2001). The reproductive biology of *Ptomascopus morio*, a brood parasite of *Nicrophorus*. *Journal of Zoology* , 255, 543-560.
- Vegter, K. (1993). Gastheren van enige soorten *Sphecodes* in Drenthe (Hymenoptera: Apidae). *Entomologische Berichten (Amsterdam)* , 53, 67-70.
- Villesen, P. (2007). FaBox: an online toolbox for fasta sequences. *Molecular Ecology Notes* , 7, 965-968.
- Vollrath, F. (1984). Kleptobiotic interactions in invertebrates. In: C. J. Barnard, C. J. *Producers and scroungers: strategies of exploitation and parasitism*. London: Croom helm, 61-94.
- Van Valen, L. (1973). A new evolutionary law. *Evolutionary Theory* , 1, 1-30.
- Warncke, K. (1992). Die Westpaläarktischen Arten der Bienengattung *Sphecodes* Latr. (Hymenoptera, Apidae, Halictinae). *Bericht der Naturforschenden Gessellschaft Augsburg* , 52, 9-64.
- Wcislo, W. T. (1987). The Roles of seasonality, host synchrony, and behaviour in the evolutions and distributions of nest parasites in Hymenoptera (Insecta), with special

- reference to bees (Apoidea). *Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society* , 62, 515-543.
- Westrich, P. (1989). *Die Wildbienen Baden-Württembergs*. Stuttgart: Eugen Ulmer Verlag, 972pp.
- Westrich, P. (2006). Beobachtungen an einem Nistplatz von *Lasioglossum marginellum* (Schenck, 1853) (Hym., Apidae). *Entomologische Nachrichten und Berichte* , 50, 55- 61.
- Whitlock, M. C. (1996). The red queen beats the jack-of-all-trades: The limitations on the evolution of phenotypic plasticity and niche breadth. *The American Naturalist* , 148, S65-S77.
- Williams, N. M. (2003). Use of novel pollen species by specialist and generalist solitary bees (Hymenoptera: Megachilidae). *Oecologia* , 134, 228–237.
- Wilson, D. S., & Turelli, M. (1986). Stable Underdominance and the Evolutionary Invasion of Empty Niches. *The American Naturalist* , 127, 835-850.

9. Přílohy

Příloha 1: Přehled hostitelské specializace druhů rodu *Sphecodes* použitých v analýzách

Tabulka 6: Přehled hostitelské specializace druhů rodu *Sphecodes* použitých v analýze

V druhém sloupci (Specialista/ Generalista) je uvedeno, zda byl druh v analýzách pokládán za specialistu - S nebo za generalistu – G. **Tučně** je uveden stav použitý v hlavní analýze. U druhů, kde je stav tohoto znaku diskutabilní je v závorce vlevo uveden stav použitý v analýze s volnější definicí specialisty a v závorce vpravo stav použitý v analýze se striktnější definicí specialisty. ? je uveden u druhů, kde nejsou data o hostitelích známa.

Použité zkratky rodů: S. – *Sphecodes*, H. – *Halictus*, L. – *Lasioglossum*, A. – *Andrena*. Hvězdička - * označuje méně pravděpodobné, nicméně možné hostitele.

V tabulce **Analýza hostitelů** jsou křížkem označeny rody (podrody) hostitelů, u kterých daný kukaččí druh parazituje: **LS** – *Lasioglossum* sensu stricto (podrod *Lasioglossum*), **LO** – „*Lasioglossum* - ostatní podrody“, **H** – *Halictus* sensu stricto (podrod *Halictus*), **S** – *Halictus* podrod *Seladonia*, **C** – *Colletes*, **P** – *Perdita*, **M** – *Melitturga*.

Druh	Specialista / Generalista	Hostitelé	Zdroj	Analýza hostitelů							
				LS	LO	H	S	A	C	P	M
<i>S. albilabris</i>	(S) S (G)	<i>Colletes cunicularius</i> (Linnaeus, 1761) <i>Melitturga clavicornis</i> (Latreille, 1806)	Blüthgen (1934); Westrich (1989) Rozen (1965)						x		x
<i>S. alternatus</i>	S	<i>H. compressus</i> (Walckener, 1802)* <i>H. langobardicus</i> Blüthgen, 1944* <i>H. patellatus</i> F. Morawitz, 1873*	Bogusch & Straka (in prep.) Bogusch & Straka. (in prep.) Blüthgen (1934)			x					
<i>S. autumnalis</i>	S	<i>Perdita octomaculata</i> (Say, 1824) <i>Perdita albipennis</i> Cresson, 1868	Eickwort (1977) Danforth (1989)							x	
<i>S. schencki</i>	S	<i>L. discum</i> (Smith, 1853)	Blüthgen (1934); Grozdanić (1971)	x							
<i>S. clematidis</i>	?										
<i>S. croaticus</i>	S	<i>L. interruptum</i> (Panzer, 1798)*	Blüthgen (1934)		x						
<i>S. zangheri</i>	?										
<i>S. confertus</i>	S	<i>A. wellesleyana</i> Robertson, 1897	Mike Arduser, vlastní pozorování					x			
<i>S. crassus</i>	(S) G (G)	<i>L. pauxillum</i> (Schenck, 1853) <i>L. punctatissimum</i> (Schenck, 1853) <i>L. quadrinotatum</i> (Schenck, 1861) <i>L. nitidiusculum</i> (Kirby, 1802) <i>L. prasinum</i> (Smith, 1848)	Stoeckhert (1933), Sick et al. (1994) Westrich (1989); Vegter (1993) Alfken (1912) Stoeckhert (1933) Vegter (1993)		x						
<i>S. cristatus</i>	(S) S (G)	<i>L. nigripes</i> (Lepeletier, 1841)* <i>H. seladonius</i> (Fabricius, 1794) <i>H. semitectus</i> Morawitz, 1874 <i>H. confusus</i> Smith, 1853 <i>H. subauratus</i> (Rossi, 1792)	Blüthgen (1934) Bogusch & Straka (in prep.) Bogusch & Straka (in prep.) Bogusch & Straka (in prep.) Westrich (1989); Bogusch (2003)		x		x				

Tabulka 6: Přehled hostitelské specializace druhů rodu *Sphecodes* použitých v analýze (pokračování)

Druh	Specialista / Generalista	Hostitelé	Zdroj	Analýza hostitelů							
				LS	LO	H	S	A	C	P	M
<i>S. ephippius</i>	G	<i>L. leucozonium</i> (Schränk, 1781)	Bogusch et al. (2006)								
		<i>L. lativentre</i> (Schenck, 1853)	Bogusch et al. (2006)								
		<i>L. laticeps</i> (Schenck, 1870)	Bogusch et al. (2006)								
		<i>L. malachurum</i> (Kirby, 1802)	Bogusch et al. (2006)								
		<i>L. pauxillum</i> (Schenck, 1853)	Bogusch et al. (2006)								
		<i>L. quadrinotatum</i> (Schenck, 1861)	Bogusch et al. (2006)								
		<i>L. fratellum</i> (Pérez, 1903)	Bogusch et al. (2006)								
		<i>L. prasinum</i> (Smith, 1848)	Bogusch et al. (2006)								
		<i>H. maculatus</i> Smith, 1848	Bogusch et al. (2006)	x	x	x	x	x			
		<i>H. rubicundus</i> (Christ, 1791)	Bogusch et al. (2006)								
		<i>H. tumulorum</i> (Linnaeus, 1758)	Bogusch et al. (2006)								
		<i>A. barbilabris</i> (Kirby, 1802)	Bogusch et al. (2006)								
		<i>A. flavipes</i> Panzer, 1798	Bogusch et al. (2006)								
		<i>A. chrysopyga</i> Schenck, 1853	Bogusch et al. (2006)								
		<i>A. labialis</i> (Kirby, 1802)	Bogusch et al. (2006)								
		<i>A. minutula</i> (Kirby, 1802)	Bogusch et al. (2006)								
		<i>A. wilkella</i> (Kirby, 1802)	Bogusch et al. (2006)								
<i>S. ferruginatus</i>	S	<i>L. fulvicorne</i> (Kirby, 1802)	Stoeckhert (1933)		x						
<i>S. geoffrellus</i>	(S) S (G)	<i>L. leucopus</i> (Kirby, 1802)	Westrich (1989)								
		<i>L. morio</i> (Fabricius, 1793)	Westrich (1989)								
		<i>L. nitidiusculum</i> (Kirby, 1802)	Westrich (1989)								
		<i>L. pauxillum</i> (Schenck, 1853)	Bogusch (2003)		x						
		<i>L. fratellum</i> (Pérez, 1903)	Field (1996)								
		<i>L. rufitarse</i> (Zetterstedt, 1838)	Neumeyer & Obrist (2000)								
		<i>L. sexstrigatum</i> (Schenck, 1870)	Vegter (1993)								
		<i>L. marginellum</i> (Schenck, 1853)	Westrich (2006)								

Tabulka 6: Přehled hostitelské specializace druhů rodu *Sphecodes* použitých v analýze (pokračování)

Druh	Specialista / Generalista	Hostitelé	Zdroj	Analýza hostitelů							
				LS	LO	H	S	A	C	P	M
<i>S. gibbus</i>	(S) G (G)	<i>L. malachurum</i> (Kirby, 1802)*	Bogusch (2003)								
		<i>H. quadricinctus</i> (Fabricius, 1776)	Straka, vlastní pozorování								
		<i>H. rubicundus</i> (Christ, 1791)	Straka, vlastní pozorování								
		<i>H. sexcinctus</i> (Fabricius, 1775)	Westrich (1989)		x	x					
		<i>H. simplex</i> Blüthgen, 1923	Bogusch (2003)								
		<i>H. maculatus</i> Smith, 1848	Westrich (1989)								
<i>S. hyalinatus</i>	S	<i>L. fratellum</i> (Pérez, 1903)	Field (1996)		x						
<i>S. longuloides</i>	S	<i>L. fulvicorne</i> (Kirby, 1802)	Stoeckhert (1933); Westrich (1989)								
		<i>L. aglyphum</i> (Pérez, 1895)	Blüthgen (1934)		x						
<i>S. longulus</i>	S	<i>L. minutissimum</i> (Kirby, 1802)	Alfken (1912)								
		<i>L. lucidulum</i> (Schenck, 1861)	Vegter (1993)								
		<i>L. sexstrigatum</i> (Schenck, 1870)	Vegter (1993)								
		<i>L. morio</i> (Fabricius, 1793)	Westrich (1989)								
		<i>L. punctatissimum</i> Schenck, 1853	Bogusch & Straka (in prep.)		x						
		<i>L. semilucens</i> (Alfken, 1914)	Bogusch & Straka (in prep.)								
		<i>L. leucopus</i> (Kirby, 1802)*	Vegter (1993)								
		<i>L. zonulum</i> (Smith, 1848)*	Vegter (1993)								
<i>S. marginatus</i>	S	<i>L. lucidulum</i> *	Bogusch & Straka (in prep.)								
		<i>L. punctatissimum</i> *	Bogusch & Straka (in prep.)								
		<i>L. semilucens</i> *	Bogusch & Straka (in prep.)		x						
		<i>L. sabulosum</i> *	Bogusch & Straka (in prep.)								

Tabulka 6: Přehled hostitelské specializace druhů rodu *Sphecodes* použitých v analýze (pokračování)

Druh	Specialista / Generalista	Hostitelé	Zdroj	Analýza hostitelů							
				LS	LO	H	S	A	C	P	M
<i>S. miniatus</i>	S	<i>L. nitidiusculum</i> (Kirby, 1802)	Westrich (1989)								
		<i>L. morio</i> (Fabricius, 1793)	Westrich (1989)								
		<i>L. sexstrigatum</i> (Schenck, 1870)	Vegter (1993)								
		<i>L. politum</i> Schenck, 1853	Bogusch (2003)		x						
		<i>L. pauxillum</i> Schenck, 1853	Bogusch & Straka (in prep.)								
		<i>L. punctatissimum</i> Schenck, 1853	Bogusch & Straka (in prep.)								
<i>Sphecodes</i> sp. 26	?										
<i>S. majalis</i>	S	<i>L. pallens</i> (Brullé, 1832)	Herrmann et al., (2003)		x						
<i>S. monilicornis</i>	G	<i>L. leucozonium</i> (Schränk, 1781)	Bogusch et al. (2006)								
		<i>L. zonulum</i> (Smith, 1848)	Bogusch et al. (2006)								
		<i>L. albipes</i> (Fabricius, 1781)	Bogusch et al. (2006)								
		<i>L. calceatum</i> (Scopoli, 1763)	Bogusch et al. (2006)								
		<i>L. quadrinotatum</i> (Schenck, 1861)	Bogusch et al. (2006)								
		<i>L. malachurum</i> (Kirby, 1802)	Bogusch et al. (2006)								
		<i>L. prasinum</i> (Smith, 1848)	Bogusch (2003)								
		<i>L. laticeps</i> (Schenck, 1870)	Bogusch (2003)								
		<i>L. pauxillum</i> (Schenck, 1853)	Bogusch (2003)								
		<i>L. villosulum</i> (Kirby, 1802)	Bogusch (2003)								
		<i>H. rubicundus</i> (Christ, 1791)	Bogusch et al. (2006)								
		<i>H. maculatus</i> Smith, 1848	Bogusch (2003)								
		<i>H. tumulorum</i> (Linnaeus, 1758)	Bogusch (2003)								
		<i>A. flavipes</i> Panzer, 1798	Bogusch (2003)								
<i>S. niger</i>	S	<i>L. morio</i> (Fabricius, 1793)	Westrich (1989); Bogusch (2003)		x						

Tabulka 6: Přehled hostitelské specializace druhů rodu *Sphecodes* použitých v analýze (pokračování)

Druh	Specialista / Generalista	Hostitelé	Zdroj	Analýza hostitelů							
				LS	LO	H	S	A	C	P	M
<i>S. pellucidus</i>	(S) G (G)	<i>L. leucozonium</i> (Schrank, 1781)	Sick et al. (1994)	x		x					
		<i>L. prasinum</i> (Smith, 1848)*	Vegter (1993)								
		<i>A. barbilabris</i> (Kirby, 1802)	Alfken (1913); Westrich (1989)								
		<i>A. nycthemera</i> Imhoff, 1866	Schönitzer & Klinksik, 1990)								
		<i>A. argentata</i> Smith, 1844*	Westrich (1989)								
		<i>A. humilis</i> Imhoff, 1832*	Westrich (1989)								
		<i>A. ventralis</i> Imhoff, 1832*	Westrich (1989)								
		<i>A. bicolor</i> Fabricius, 1775*	Stoeckhert (1933); Blüthgen (1934)								
<i>A. wilkella</i> (Kirby, 1802)*	Blüthgen (1934)										
<i>S. pseudofasciatus</i>	?										
<i>S. olivieri</i>	S	<i>L. aegyptiellum</i> (Strand, 1909)*	Blüthgen (1934)	x	x						
		<i>L. vagans</i> (Smith, 1857)*	Blüthgen (1934)								
<i>S. pinguiculus</i>	S	<i>H. lucidipennis</i> Smith, 1853	Straka, vlastní pozorování				x				
		<i>H. smaragdulus</i> Vachal, 1895*	Straka, vlastní pozorování								
<i>S. spinulosus</i>	S	<i>L. xanthopus</i> (Kirby, 1802)	Stoeckhert (1933); Blüthgen, (1934)	x							
<i>S. punctipes</i>	S	<i>L. villosulum</i> (Kirby, 1802)	Alfken (1913)								
		<i>L. brevicorne</i> (Schenck, 1870)	Bischoff (1927)								
		<i>L. politum</i> Schenck, 1853	Bogusch & Straka (in prep.)								
		<i>L. sabulosum</i> (Warncke, 1986)	Bogusch & Straka (in prep.)								
<i>S. ranunculi</i>	?										
<i>S. rubicundus</i>	S	<i>A. labialis</i> (Kirby, 1802)	Sowa & Mostowska (1978)					x			
		<i>A. nigroaenea</i> (Kirby, 1802)	Blüthgen (1934)								
		<i>A. agilissima</i> (Scopoli, 1770)	Torka (1925)								

Tabulka 6: Přehled hostitelské specializace druhů rodu *Sphecodes* použitých v analýze (pokračování)

Druh	Specialista / Generalista	Hostitelé	Zdroj	Analýza							
				LS	LO	H	S	A	C	P	M
<i>S. reticulatus</i>	(S) S (G)	<i>L. prasinum</i> (Smith, 1848)*	Blüthgen (1934); Vegter (1993)	x				x			
		<i>A. barbilabris</i> (Kirby, 1802)	Stoeckhert (1933); Blüthgen (1934)								
		<i>A. argentata</i> Smith, 1844	Blüthgen (1934); Vegter (1993)								
		<i>A. wilkella</i> (Kirby, 1802)	Blüthgen (1934); Vegter (1993)								
<i>S. ruficrus</i>	S	<i>A. humilis</i> Imhoff, 1832	Hermann (2006)					x			
		<i>A. livens</i> Pérez, 1895	Hermann (2006); Bogusch & Straka (in prep.)								
		<i>A. taraxaci</i> Giraud, 1861	Hermann (2006)								
		<i>A. decipiens</i> Schenck, 1861	Westrich (1989)								
<i>S. rufiventris</i>	S	<i>H. maculatus</i> Smith, 1848	Stoeckhert (1933); Blüthgen (1934)			x					
<i>Sphecodes</i> sp. 1	?										
<i>Sphecodes</i> sp. 17	?										
<i>S. scabricollis</i>	S	<i>L. zonulum</i> (Smith, 1848)	Blüthgen (1934)	x							

Příloha 2: Přehled vzorků použitých v analýzách - sekvenované vzorky

Tabulka 7: Přehled vzorků použitých v analýzách – sekvenované vzorky

S. – *Sphcodes*. Všechny v uvedených vzorků byly použity v alignmentu č. 2. Ve sloupci A1 jsou označeny vzorky, které byly použity i v alignmentu č. 1. Ve sloupcích EF1, WG 28S, LWR, COI jsou pomocí ✓ označeny vzorky, u kterých byla získána sekvence příslušného genu. ½ znamená, že se podařilo získat buď jen první nebo druhou polovinu dané sekvence.

Vzorek	Datum sběru	Lokalita	Sběratel	A1	EF1	WG	28S	LWR	COI
<i>Austrosphcodes</i> sp. 1	11.-12.12.2006	Peru SW, Dep. De Arauipa, 2500m	J. Straka	✓	✓	✓	✓	✓	✓
<i>Austrosphcodes</i> sp. 12	2.8.2010	Argentina, ruta 40, 10 km N Belen	M. Halada	✓	✓	✓	✓	✓	✓
<i>Austrosphcodes</i> sp. 13	2.8.2010	Argentina, ruta 40, 10 km N Belen	M. Halada	✓	✓	✓	✓	✓	✓
<i>Austrosphcodes</i> sp. 14	2.8.2010	Argentina, ruta 40, 10 km N Belen	M. Halada	✓	✓	✓	✓	✓	✓
<i>Eupetersia</i> sp. 1	23.10.2007	Angolacentr., prov Bící	Z. Musilová, L. Kalous	✓	✓	✓	✓	✓	✓
<i>Microsphcodes</i> sp. 10	18.5 – 1.6. 1998	Venezuela: Lara, 17,4 km SE Sanave, Vacambu NP	J. Aste, R. Brooks, R. Hanley	✓	✓	✓	✓	✓	✓
<i>Microsphcodes</i> sp. 15	1. - 4.5. 1997	Bolivia: La Pas, Chulumani, Apa-Apa	L. Masner	✓	✓	✓	✓	✓	✓
<i>S. a. albilabris</i> 1	29.5.2008	CZ; Lednice env.	J. Straka	✓	✓	✓	✓	✓	✓
<i>S. a. albilabris</i> 2	2.5. 2009	CZ; Travčický les, Nučnický sandpit	P. Tyrner		✓	✓			✓
<i>S. albilabris rubripes</i>	3.4. 2010	Esp; Spain, Murcia prov., 6km S Caberno de la Plata	P. Bogusch, J. Habermannová, J. Straka		✓	✓			✓
<i>S. alternatus</i> 1	8.7.2006	HU; Orleňy, 50kmSE Budapešť	J. Straka	✓	✓	✓	✓	✓	✓
<i>S. alternatus</i> 2	VII 2010	IT; San Benedetto Belbo (CN), Piemonte	G. Pagliano		✓	✓			✓
<i>S. crassus</i> 1	28.7.2005	CZ; Klánovický les, Praha Klánovice	J. Straka	✓	✓	✓	✓		✓
<i>S. crassus</i> 2	14.6.2008	SVK; Sekule, Moravský SV. Ján env.	J. Straka		✓	✓			1/2
<i>S. crassus</i> 4	17.5.2009	CZ; Podbabské skály, Praha Sedlec	J. Straka, J. Habermannová		✓	✓			1/2
<i>S. crassus</i> 6	7. - 14.7 2006	CH; Valais, 1700m, Leuk env.	Y. Chittaro		✓	✓			✓
<i>S. cristatus</i>	5.8.2008	SVK, Sekule, Moravský Sv. Ján env.	J. Straka	✓	✓	✓	✓	✓	✓
<i>S. croaticus</i>	1.6.2002	CZ; Kuliška, Praha-Dejvice	J. Farkač	✓	✓	✓			1/2
<i>S. ehippius</i> 1	4.-5.7. 2010	HU; Örkény env.	J. Straka	✓	✓	✓	✓	✓	✓
<i>S. ehippius</i> 2	13.7.2006	CZ; Klánovický les, Praha Klánovice	J. Straka		✓	✓			✓
<i>S. ehippius</i> 3	24.4.2006	CZ; Pouzdřanská step, Pouzdřany env.	J. Straka		✓	✓			✓
<i>S. ehippius</i> 4	13.4.2008	CZ; Děvín, Pálava	J. Batelka, J. Straka		✓	✓			✓
<i>S. ehippius</i> 8	17.6.2007	CZ; Boří les, Břeclav env.	J. Straka		✓	✓			✓
<i>S. ehippius</i> 9	24.6.2008	HU; Orgovány, 20km SW Kecskemet	J. Straka, P. Bogusch		✓	✓			✓

Tabulka 7: Přehled vzorků použitých v analýzách – sekvenované vzorky (pokračování)

Vzorek	Datum sběru	Lokalita	Sběratel	A1	EF1	WG	28S	LWR	COI
<i>S. ephippius</i> 9	24.6.2008	HU; Orgovány, 20km SW Kecskemet	J. Straka, P. Bogusch		✓	✓			✓
<i>S. ephippius</i> 14	VII 2010	IT; San Benedetto Belbo (CN), Piemonte	G. Pagliano		✓	✓			✓
<i>S. ephippius</i> 15	6.8.2010	IRAN; Kerman prov., 10km S Sirjan, 1700m	P. Tyrner		✓	✓			✓
<i>S. ephippius</i> 16	6.9.2010	BULGARIA; S Bratovo village	T. Ljubomirov		✓	✓			1/2
<i>S. ephippius</i> 17	29.4.2005	CZ; Načeratický kopec, Znojmo env.	J. Straka		✓	✓	✓		✓
<i>S. ferruginatus</i> 1	29.-30.7. 2011	CZ; Tasovice env., sandpit	J. Straka	✓	✓	✓	✓	✓	✓
<i>S. ferruginatus</i> 2	13.5.2006	CZ; Chýnvice	J. Batelka, J.Straka		✓	✓			✓
<i>S. geoffrellus</i> 1	25.6.2006	CZ; Praha-Troja, Hrachovka	J. Straka	✓	✓	✓	✓	✓	✓
<i>S. geoffrellus</i> 2	21.5.2009	CZ; Zengrova ul., Praha, Hanspaulka	J. Straka		✓	✓			1/2
<i>S. geoffrellus</i> 7	13.6.2005	CZ; Cibulka, Praha Košíře	J. Straka		✓	✓			1/2
<i>S. gibbus</i> 1	29.-30.7. 2009	CZ; Tasovice env., sandpit	J. Straka	✓	✓	✓	✓	✓	✓
<i>S. gibbus</i> 2	28.9.2008	CZ; Prokopské údolí, Praha-Butovice	J. Batelka, J.Straka		✓	✓			✓
<i>S. gibbus</i> 3	28.9.2008	CZ; Kosoř env.	J. Batelka, J.Straka		✓	✓			✓
<i>S. gibbus</i> 4	14.6.2008	SVK; Sekule, Moravský Ján env.	J. Straka		✓	✓			✓
<i>S. gibbus</i> 5	25.6.2008	CZ; Veská,Pardubice env.	J. Straka		✓	✓			✓
<i>S. gibbus</i> 6	20.6.2008	CZ; Státní lom NR, Čelechovice na Hané env.	J. Straka		✓	✓			✓
<i>S. gibbus</i> 7	17.6.2007	CZ; Boří les, Břeclav env.	J. Straka		✓	✓			✓
<i>S. gibbus</i> 10	6.5.2010	IRAN; Kerman prov. 20Km E Ghobira	P. Tyrner		✓	✓			✓
<i>S. hyalinatus</i> 3	4.-5. 7. 2010	CZ; Vápenná – lom s ukončenou těžbou; Jeseník env.	J. Farkač, J. Straka		✓	✓			✓
<i>S. hyalinatus</i> 4	7.1.2010	BULGARIA, SW Staroplaninets hut	T. Ljubomirov	✓	✓	✓		✓	✓
<i>S. longuloides</i>	3.4. 2010	Esp; Spain, Valencia prov., Casas de Madrona env.	P. Bogusch, J. Habermannová, J. Straka	✓	✓	✓	✓	✓	✓
<i>S. longulus</i> 1	6.7.2008	SVK; Abrod NR, Velké Leváre env.	J. Straka, P. Janšta, P. Šípek, D. Král	✓	✓	✓	✓	✓	✓
<i>S. longulus</i> 2	28.4. 2006	CZ; Jaroslavice 7263	J. Straka		✓	✓			1/2
<i>S. longulus</i> 3	VII 2010	IT; San Benedetto Belbo (CN), Piemonte	G. Pagliano		✓	✓			✓
<i>S. majalis</i>	24.4.2006	CZ; Pouzdřanská step, Pouzdřany env.	J. Straka	✓	✓	✓	✓		✓
<i>S. marginatus</i> 1	24.4.2006	CZ; Pouzdřanská step, Pouzdřany env.	J. Straka		✓	✓	✓	✓	✓
<i>S. marginatus</i> 3	28.4.2006	CZ;Jaroslavice 7263	J. Straka		✓	✓			
<i>S. marginatus</i> 5	30.3.2008	Tunisia mer.,prov. Kebili Nouaeil env.	P. Bogusch		✓	✓			1/2
<i>S. marginatus</i> 6	30.3.2008	Tunisia mer.,prov. Kebili Jemna env.	P. Bogusch		✓	✓			✓

Tabulka 7: Přehled vzorků použitých v analýzách – sekvenované vzorky (pokračování)

Vzorek	Datum sběru	Lokalita	Sběratel	A1	EF1	WG	28S	LWR	COI
<i>S. miniatus</i> 2	14.6.2008	SVK; Šišulákovce, Lakšarská Nová Ves	J. Straka		✓	✓			✓
<i>S. miniatus</i> 4	12.6.2006	CZ; Dolní Věstonice	J. Straka		✓	✓		✓	1/2
<i>S. miniatus</i> 7	14. - 22.7. 2006	CH; Valais, 1700m, Leuk env.	Y. Chittaro		✓	✓		✓	✓
<i>S. miniatus</i> 9	14.6. 2008	SVK; Sekule, Moravský SV. Ján env.	J. Straka	✓	✓	✓		✓	
<i>S. m. monilicornis</i> 1	29.-30.7. 2008	CZ; Tasovice env., sandpit	J. Straka		✓	✓	✓	✓	✓
<i>S. m. monilicornis</i> 2	28.9.2008	CZ, Chýnice env.	J. Batelka, J.Straka		✓	✓			✓
<i>S. m. monilicornis</i> 4	29.4.2005	CZ; Načeratický kopec, Znojmo env.	J. Straka		✓	✓			✓
<i>S. m. monilicornis</i> 7	2010	CZ; Lomnice u Sokolova, sandpit Erika	J. Straka		✓	✓			✓
<i>S. m. monilicornis</i> 8	VII 2010	IT; San Benedetto Belbo (CN), Piemonte	G. Pagliano		✓	✓			✓
<i>S. monilicornis cephalotes</i>	23.6. 2010	TURKEY; Simak prov.; N 37°67'E42°31', 1600m	P. Tyrner		✓	✓			✓
<i>S. m. monilicornis</i> 10	8.2.2010	BULGARIA, S Kokalyane village	T. Ljubomirov	✓	✓	✓			✓
<i>S. niger</i>	24.4.2006	CZ; Pouzdřanská step, Pouzdřany env.	J. Straka	✓	✓	✓	✓	✓	✓
<i>S. olivieri</i>	30.3.2008	Tunisia mer. Prov., Kebili Novaeil env.	B. Bogusch	✓	✓	✓			✓
<i>S. pellucidus</i> 1	14.6.2008	SVK, Sekule, Moravský Sv. Ján env.	J. Straka	✓	✓	✓	✓		✓
<i>S. pellucidus</i> 3	15.6. 2009	CZ; Travčický les, Nučnický sandpit	P. Tyrner		✓	✓			✓
<i>S. pellucidus</i> 4	25.7. - 1.8. 2006	CH; Valais, 1450m, Leuk env. KF8 Rand	Y. Chittaro		✓	✓			✓
<i>S. pellucidus</i> 5	24.4. 2008	HU; Orkeny env.	J. Straka, P. Bogusch		✓	✓			✓
<i>S. pelucidus</i> 11	2010	CZ; Pomezí nad Ohří, sandpit	J. Straka		✓	✓			✓
<i>S. pinguiculus</i>	5.10.2009	Cabo Verde, Santiago isl., Tarrafal env., coast	J.Batelka, J.Straka	✓	✓	✓		✓	✓
<i>S. pseudofasciatus</i>	29.4.2005	CZ, Načeratický kopec, Znojmo env.	J. Straka	✓	✓	✓	✓		✓
<i>S. punctipes</i> 1	4.-5.7. 2009	HU; Örkeny env.	J. Straka	✓	✓	✓	✓	✓	✓
<i>S. punctipes</i> 3	16. - 22.9. 1996	Marocco; Marrako, Ofirgame 1000 m	C. Kassobeer MT		✓	✓			✓
<i>S. reticulatus</i> 2	30.7. 2009	CZ; Mazurovi chalupy PR	P. Bogusch	✓	✓	✓		✓	✓
<i>S. reticulatus</i> 3	VII 2010	IT; San Benedetto Belbo (CN), Piemonte	G. Pagliano		✓	✓		✓	✓
<i>S. rubicundus</i>	9.6.2008	CZ; Oškobrht. mt., Poděbrady env.	J. Straka	✓	✓	✓	✓	✓	✓
<i>S. ruficrus</i> 1	7.4.2006	Tunisia mer. Jerba Rass Rmel, sand dunes	J. Batelka, J.Straka	✓	✓	✓	✓	✓	✓
<i>S. ruficrus</i> 2	3.4. 2010	Esp; Spain, Valencia prov., Casas de Madrona env.	P. Bogusch, J. Habermannová, J. Straka		✓	✓			✓

Tabulka 7: Přehled vzorků použitých v analýzách – sekvenované vzorky (pokračování)

Vzorek	Datum sběru	Lokalita	Sběratel	A1	EF1	WG	28S	LWR	COI
<i>S. rufiventris</i> 1	29.-30.7. 2010	CZ; Tasovice env., sandpit	J. Straka	✓	✓	✓	✓	✓	✓
<i>S. rufiventris</i> 2	17.5.2009	CZ; Baba PR, step, Praha-Dejvice	J. Straka, J. Habermannová		✓	✓			1/2
<i>S. rufiventris</i> 3	VII 2010	IT; San Benedetto Belbo (CN), Piemonte	G. Pagliano		✓	✓			✓
<i>S. rufiventris</i> 4	24.6.2005	CZ; Pouzdřany env.	J. Straka		✓	✓	✓	✓	✓
<i>S. scabricolis</i> 3	2.7.1905	Germany; Konstarz	M. Flerrmenz		✓	✓			
<i>S. scabricolis</i> 4	2.7.1905	Germany; Konstarz	M. Flerrmenz	✓	✓	✓			1/2
<i>S. schenckii</i> 1	10.8.2006	Turkey mer.; Ihlara vadini, Aksay prov.	J. Růžička	✓	✓	✓	✓	✓	✓
<i>S. schenckii</i> 2	16.6. 2010	IRAN; Gilan prov., 960m, Tutkabon near Roodbar	P. Tyrner		✓	✓			✓
<i>S. spinulosus</i> 1	14.5.2009	CZ; Lovoš mt., České středohoří PLA	J. Straka		✓	✓	✓	✓	✓
<i>S. spinulosus</i> 2	24.4.2008	HU; Jajabszállás	J. Straka, P. Bogusch		✓	✓			✓
<i>S. zangheri</i> 1	13. - 20.6. 2006	CH; Valais, 1200m, Leuk env.	Y. Chittaro	✓		✓			1/2
<i>S. zangheri</i> 3	14. - 22.7. 2006	CH; Valais, 1700m, Leuk env.	Y. Chittaro			✓			1/2
<i>Sphecodes</i> sp. 1	31.3.2008	Tunisia mer. Prov., Kebili Novaeil env.	B. Bogusch	✓	✓	✓	✓	✓	1/2
<i>Sphecodes</i> sp. 2	9.7.2007	Canada E, Nova Scotia	J. Straka		✓	✓	✓		✓
<i>Sphecodes</i> sp. 3	10.7.2007	Canada E, Nova Scotia	J. Straka		✓	✓	✓		✓
<i>Sphecodes</i> sp. 7	5.8.1994	USA; Patagonia, Sanorita Creek Reserve	B. Brown, E. Wilk MT		✓	✓	✓		✓
<i>Sphecodes</i> sp. 8	5.8.1994	USA; Patagonia, Sanorita Creek Reserve	B. Brown, E. Wilk MT		✓	✓	✓		✓
<i>Sphecodes</i> sp. 9	5.8.1994	USA; Patagonia, Sanorita Creek Reserve	B. Brown, E. Wilk MT		✓	✓	✓		✓
<i>Sphecodes</i> sp. 17	19. - 26.9. 1994	Canada; ON, Ancaster	B. De Janye	✓	✓	✓	✓	✓	✓
<i>Sphecodes</i> sp. 18	13.8. 1993	Canada; PEI, Crapaud	M.E.M. Smith			✓			✓
<i>Sphecodes</i> sp. 21	6.5.1995	Japan; Gifu Mt., Ena San, 1200-1900m	K. Yamagishi SSW		✓	✓			✓
<i>Sphecodes</i> sp. 24	6.11.2010	IRAN; Golestan prov. 70KmE Minudasht	P. Tyrner		✓	✓		✓	

Příloha 3: Přehled vzorků použitých v analýzách – vzorky stažené z databáze NCBI

Tabulka 8: Přehled vzorků použitých v analýzách – vzorky stažené z databáze NCBI, geny EF1, WG, 28S

Pod názvem daného genu je uvedeno identifikační číslo z databáze NCBI. X znamená, že daná sekvence nebyla k dispozici.

Všechny sekvence uvedené v této tabulce byly použity v analýzách alignmentu č. 1 i alignmentu č. 2.

Druh	EF1	Zdroj	WG	Zdroj	28S	Zdroj
<i>Agapostemon tyleri</i>	AF140320.1	Danforth et al. (1999)	AY222577.1	Danforth et al. (2008)	AY654506.1	Danforth et al. (2006b)
<i>Augochloropsis metallica</i>	AF140315.1	Danforth et al. (1999)	AY222571.1	Danforth et al. (2008)	GU320093.1	Cardinal & Danforth (unpublished)
<i>Conanthalictus wilmattae</i>	AF435378.1	Danforth (2002)	AY222553.1	Danforth et al. (2008)	AY654508.1	Danforth et al. (2006b)
<i>Dieunomia nevadensis</i>	AF435396.1	Danforth (2002)	AY222568.1	Danforth et al. (2008)	DQ060852.1	Danforth et al. (2006a)
<i>Dufourea novaeangliae</i>	AF435384.1	Danforth (2002)	AY222556.1	Danforth et al. (2008)	x	
<i>Eupettersia seyrigi</i>	EU203259.1	Danforth et al. (2008)	EU203228.1	Danforth et al. (2008)	x	
<i>Halictus ligatus</i>	AF140299	Danforth et al. (1999)	AY455899.1	Danforth & Brady (unpublished)	x	
<i>Halictus quadricinctus</i>	AF140334.1	Danforth et al. (1999)	x		x	
<i>Lasioglossum calceatum</i>	AF435385.1	Danforth (2002)	AY222608.1	Danforth et al. (2008)	x	
<i>Lasioglossum florale</i>	AF264792.1	Danforth & Ji (2001)	AY222602.1	Danforth et al. (2004)	x	
<i>Lasioglossum hybodinum</i>	AF264857.1	Danforth & Ji (2001)	AY222599.1	Danforth et al. (2004)	GU320096.1	Cardinal & Danforth (unpublished)
<i>Lasioglossum lustrans</i>	AF435388.1	Danforth (2002)	AY222609.1	Danforth et al. (2008)	x	
<i>Lasioglossum zephyrum</i>	AF435379.1	Danforth (2002)	AY222607.1	Danforth et al. (2008)	x	
<i>Lasioglossum zonulum</i>	AF264855.1	Danforth & Ji (2001)	AY222606.1	Danforth et al. (2004)	x	
<i>Nomioides facilis</i>	AF435394.1	Danforth (2002)	AY222566.1	Danforth et al. (2004)	AY654511.1	Danforth et al. (2006b)
<i>Patellapis abessinica</i>	EU203267.1	Danforth et al. (2008)	EU203236.1	Danforth et al. (2008)	GU320097.1	Cardinal & Danforth (unpublished)
<i>Penapis penai</i>	AF435401.1	Danforth (2002)	AY222558.1	Danforth et al. (2008)	AY654513.1	Danforth et al. (2006b)
<i>Ruizantheda mutabilis</i>	AF435406.1	Danforth (2002)	AY222586.1	Danforth et al. (2008)	GU320094.1	Cardinal & Danforth (unpublished)
<i>Sphecodes autumnalis</i>	EU203256.1	Danforth et al. (2008)	EU203225.1	Danforth et al. (2008)	x	
<i>Sphecodes clematidis</i>	EU203257.1	Danforth et al. (2008)	EU203226.1	Danforth et al. (2008)	x	
<i>Sphecodes confertus</i>	EU203258.1	Danforth et al. (2008)	EU203227.1	Danforth et al. (2008)	x	
<i>Sphecodes sp. 26</i>	AF140324.1	Danforth et al. (1999)	AY222596.1	Danforth et al. (2008)	x	
<i>Sphecodes ranunculi</i>	AF140325.1	Danforth et al. (1999)	AY222597.1	Danforth et al. (2008)	x	
<i>Systropha curvicornis</i>	AF435411.1	Danforth (2002)	AY222562.1	Danforth et al. (2008)	AY654516.1	Danforth et al. (2006b)
<i>Thrinchostoma lemuriar</i>	EU203254.1	Danforth et al. (2008)	EU203223.1	Danforth et al. (2008)	x	
<i>Xeralictus bicuspidariae</i>	AF435413.1	Danforth (2002)	AY222564.1	Danforth et al. (2008)	AY654517.1	Danforth et al. (2006b)

Tabulka 8: Přehled vzorků použitých v analýzách – vzorky stažené z databáze NCBI, geny LWR, COI

Pod názvem daného genu je uvedeno identifikační číslo z databáze NCBI. X znamená, že daná sekvence nebyla k dispozici.

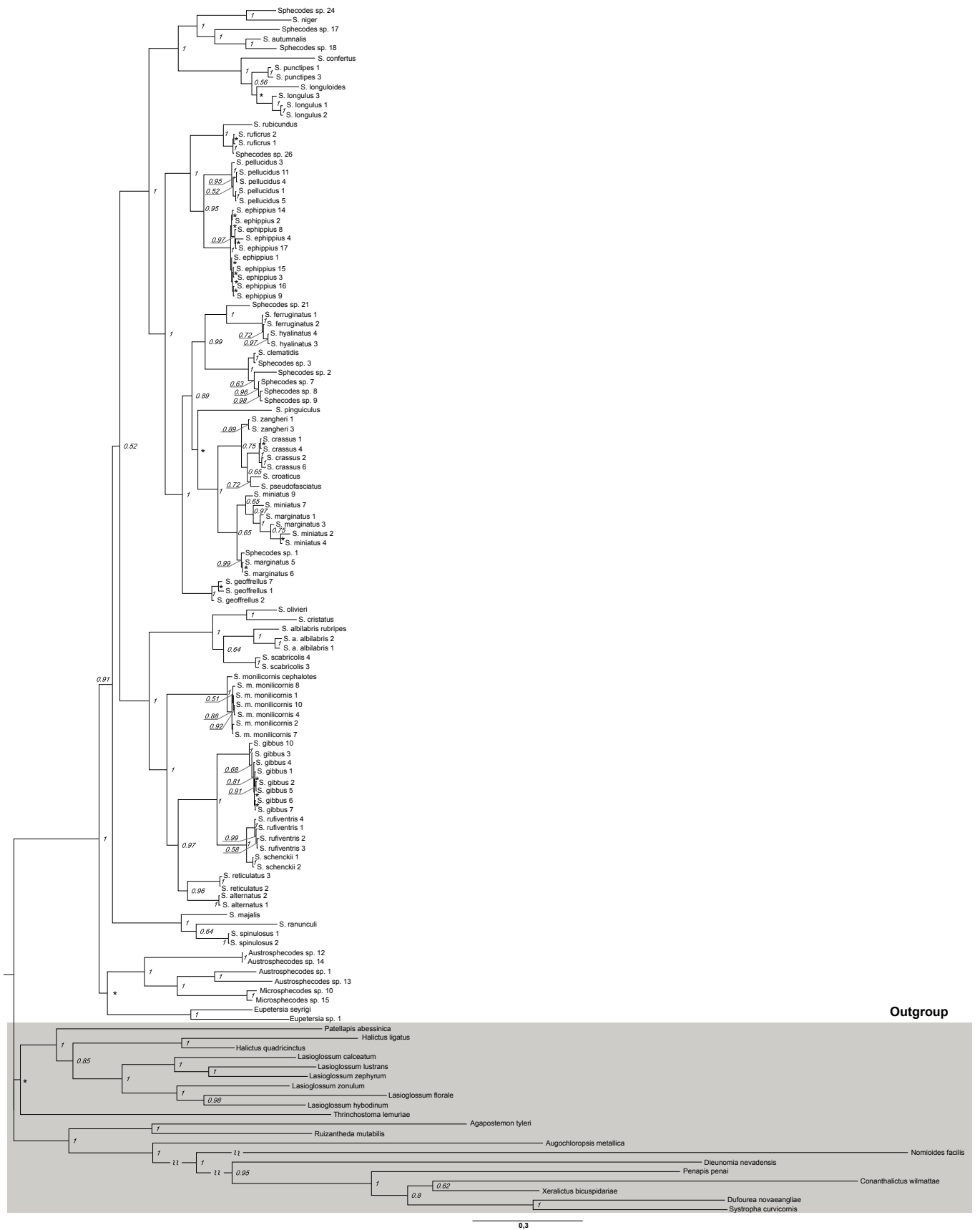
Všechny sekvence uvedené v této tabulce byly použity v analýzách alignmentu č. 1 i alignmentu č. 2.

Druh	LWR	Zdroj	COI	Zdroj
<i>Agapostemon tyleri</i>	AY227940.1	Danforth et al. (2004)	AF102835.1	Danforth (1999)
<i>Augochloropsis metallica</i>	AY227934.1	Danforth et al. (2004)	x	
<i>Conanthalictus wilmattae</i>	AY227916.1	Danforth et al. (2004)	x	
<i>Dieunomia nevadensis</i>	AY227931.1	Danforth et al. (2004)	x	
<i>Dufourea novaeangliae</i>	AY227919.1	Danforth et al. (2006b)	FJ582211.1	Sheffield et al. (2009)
<i>Eupetersia seyrigi</i>	EU203287.1	Danforth et al. (2008)	x	
<i>Halictus ligatus</i>	AY455895.1	Danforth & Brady (unpublished)	AF102840.1	Danforth (1999) Soucy & Danforth (2002)
<i>Halictus quadricinctus</i>	AY227956.1	Danforth et al. (2004)	AF438422.1	
<i>Lasioglossum calceatum</i>	AF448877.1	Danforth et al. (2003)	AF103980.1	Danforth (1999)
<i>Lasioglossum florale</i>	AY227966.1	Danforth et al. (2004)	AF103955.1	Danforth (1999)
<i>Lasioglossum hybodinum</i>	AY227963.1	Danforth et al. (2004)	AF104660.1	Danforth (1999)
<i>Lasioglossum lustrans</i>	AF448904.1	Danforth et al. (2003)	AF104643.1	Danforth (1999)
<i>Lasioglossum zephyrum</i>	AF448918.1	Danforth et al. (2003)	AF103974.1	Danforth (1999)
<i>Lasioglossum zonulum</i>	AY227969.1	Danforth et al. (2004)	AF104658.1	Danforth (1999)
<i>Nomioides facilis</i>	AY227929.1	Danforth et al. (2004)	x	
<i>Patellapis abessinica</i>	EU203295.1	Danforth et al. (2008)	x	
<i>Penapis penai</i>	AY227921.1	Danforth et al. (2004)	x	
<i>Ruizantheda mutabilis</i>	AY227949.1	Danforth et al. (2004)	x	
<i>Sphecodes autumnalis</i>	x		FJ582459.1	Sheffield et al. (2009)
<i>Sphecodes clematidis</i>	x		FJ582469.1	Sheffield et al. (2009)
<i>Sphecodes confertus</i>	x		FJ582472.1	Sheffield et al. (2009)
<i>Sphecodes sp. 26</i>	AY227960.1	Danforth et al. (2004)	AF102844.1	Danforth (1999)
<i>Sphecodes ranunculi</i>	AY227961.1	Danforth et al. (2004)	FJ582493.1	Sheffield et al. (2009)
<i>Systropha curvicornis</i>	AY227925.1	Danforth et al. (2004)	x	
<i>Thrinchostoma lemurae</i>	EU203285.1	Danforth et al. (2008)	x	
<i>Xeralictus bicuspidariae</i>	AY227927.1	Danforth et al. (2004)	x	

Příloha 4: Výsledek fylogenetické analýzy alignmentu č. 2 získaný Bayesovskou metodou

Obrázek 14: Výsledek fylogenetické analýzy alignmentu č. 2 získaný pomocí Bayesovské metody

Fylogenetický strom je vytvořen na základě konkaténátu tří genů (COI, EF1, WG). Hodnoty posteriorních pravděpodobností menší než 0.5 jsou nahrazeny hvězdičkou (*). Některé větve v outgroupu byly zkráceny.



Příloha 5: Výsledek fylogenetické analýzy alignmentu č. 2 získaný metodou maximální věrohodnosti

Obrázek 15: Výsledek fylogenetické analýzy alignmentu č. 2 získaný pomocí metody maximální věrohodnosti (Maximal Likelihood)

Fylogenetický strom je vytvořen na základě konkaténátu tří genů (COI, EF1, WG). Hodnoty bootstrapů menší než 50 jsou nahrazeny hvězdičkou (*). Některé větve v outgroupu byly zkrác



Příloha 6: Seznam vědeckých názvů taxonů použitých v analýzách

Sphecodes albilabris (Fabricius, 1793)
Sphecodes alternatus Smith 1853
Sphecodes autumnalis Mitchell, 1956
Sphecodes schencki Hagens, 1882
Sphecodes clematidis Robertson 1897
Sphecodes croaticus Meyer 1922
Sphecodes zangheri Noskiewicz, 1931
Sphecodes confertus Say 1837
Sphecodes crassus Thomson 1870
Sphecodes cristatus Hagens, 1882
Sphecodes ephippius (Linnaeus, 1767)
Sphecodes ferruginatus Hagens, 1882
Sphecodes geoffrellus (Kirby, 1802)
Sphecodes gibbus (Linnaeus, 1758)
Sphecodes hyalinatus Hagens, 1882
Sphecodes longuloides Bluethgen, 1923
Sphecodes longulus von Hagens, 1882
Sphecodes marginatus Hagens 1882
Sphecodes miniatus Hagens, 1882
Sphecodes majalis Pérez, 1903
Sphecodes monilicornis (Kirby, 1802)
Sphecodes niger V. Hagens, 1882
Sphecodes pellucidus Smith, 1845
Sphecodes pseudofasciatus Blüthgen, 1925
Sphecodes olivieri Lepeletier & Serville, 1825
Sphecodes pinguiculus Perez, 1903
Sphecodes spinulosus Hagens, 1875
Sphecodes punctipes Thomson, 1870
Sphecodes ranunculi Robertson, 1897
Sphecodes rubicundus Hagens, 1875
Sphecodes reticulatus Thomson, 1870
Sphecodes ruficrus (Erichson, 1835)
Sphecodes rufiventris (Panzer 1798)
Sphecodes scabricollis Wesmael, 1835
Sphecodes Latreille, 1805

Austrosphecodes Michener, 1978
Microsphecodes Eickwort & Stage, 1972
Agapostemon tyleri Cockerell, 1917
Augochloropsis metallica (Fabricius, 1793)
Conanthalictus wilmattae Cockerell, 1936
Dieunomia nevadensis (Cresson, 1874)
Dufourea novaeangliae (Robertson, 1897)
Eupetersia Blüthgen, 1928
Eupetersia seyrigi Pauly & Brooks, 2001
Halictus ligatus Say, 1837
Halictus quadricinctus (Fabricius, 1776)
Lasioglossum calceatum (Scopoli, 1763)
Lasioglossum florale (Smith, 1853)
Lasioglossum hybodinum (Cockerell, 1912)
Lasioglossum lustrans (Cockerell, 1897)
Lasioglossum zephyrum (Smith, 1853)
Lasioglossum zonulum (Smith, 1848)
Nomioides facilis (Smith, 1853)
Patellapis abessinica (Friese, 1916)
Penapis penai Michener, 1965
Ruizantheda mutabilis (Spinola, 1851)
Systropha curvicornis (Scopoli, 1770)
Thrinchostoma lemurae Cockerell, 1910
Xeralictus bicuspidariae Snelling & Stage, 1995